

VALIDASI METODE ANALISIS MULTIRESIDU PESTISIDA ORGANOKLOR DALAM SALAK MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI GAS-DETEKTOR PENANGKAP ELEKTRON

Validation of Multiresidue Analytical Method for Organochlorine Pesticides in Snakefruit Using Gas Chromatography-Electron Capture Detector

Tri Joko Raharjo^{1,2}, Bambang Sutriyanto², Mai Anugrahwati¹, Nurul Hidayat Aprilita¹

¹Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jl. Kaliurang Km. 5 Sekip Utara, Yogyakarta 55281

²Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada, Jl. Kaliurang Km 4,5 Sekip Utara Yogyakarta 55281
Email: trijr_mipa@ugm.ac.id

ASBTRAK

Validasi metode merupakan tahap kunci dalam proses akreditasi suatu metode. Validasi metode uji residu pestisida organoklor dalam salak berdasarkan metode yang direkomendasikan FAO-WHO, di LPPT-UGM dilaporkan pada penelitian ini. Buah salak dihomogenisasi, diekstraksi menggunakan toluen/2-propanol (2:1), *clean up* menggunakan karbon aktif dan Celite 545, dilanjutkan analisis menggunakan kromatografi gas-detektor penangkap elektron. Validasi mencakup spesifisitas dan selektivitas, batas deteksi dan kuantifikasi, range linier, presisi serta akurasi. Hasil validasi menunjukkan spesifisitas dan selektivitas yang baik ditunjukkan dengan resolusi antar puncak kromatogram lebih besar dari 1,5. Batas deteksi dan batas kuantifikasi untuk heptaklor, endosulfan, dieldrin dan p,p-DDT secara berturut-turut adalah 0,002 dan 0,006; 0,5 dan 1,7; 0,0006 dan 0,002; serta 0,014 dan 0,047 ppm. Range linier untuk heptaklor adalah 0,0017-2 ppm, endosulfan 0,165-2 ppm, dieldrin 0,023-2 ppm dan p,p-DDT 0,229-2 ppm. Presisi metode memenuhi batas keberterimaan Horwitz dengan nilai RSD lebih kecil dari 12,78% pada konsentrasi 0,3 ppm. Akurasi ditunjukkan dengan *recovery*, untuk tiap pestisida masuk dalam rentang keberterimaan 80-110% pada konsentrasi 0,1 ppm. Analisis pestisida organoklorin pada 3 sampel salak komersial menunjukkan tidak adanya residu pestisida dengan konsentrasi lebih tinggi dari batas deteksi.

Kata kunci: Validasi, organoklor, salak, kromatografi gas penangkap electron

ABSTRACT

Validation of methods is a key step in the accreditation process of the method. Validation of organochlorine pesticide residues method in snakefruit based on the method recommended by FAO-WHO, conducted in LPPT-UGM reported in this study. Snake fruit was homogenized, extracted using toluene/2-propanol (2:1), cleaned up using activated carbon and Celite 545, followed by analysis using gas chromatography-electron capture detector. Validation covered specificity and selectivity, limits of detection and quantification, linear range, precision and accuracy. Validation results showed good specificity and selectivity shown by the inter-peak chromatogram resolution greater than 1.5. Limits of detection and quantification for heptachlor, endosulfan, dieldrin and p, p-DDT were 0.002 and 0.006, 0.5 and 1.7; 0.0006 and 0.002, as well as 0.014 and 0.047 ppm respectively. The linear range for heptachlor, endosulfan, dieldrin, and p,p-DDT were 0.0017 to 2 ppm, 0.165 to 2 ppm, 0.023 to 2 ppm and 0.229 to 2 ppm, respectively. Precision methods meet the acceptance of Horwitz RSD value less than 12.78% at a concentration of 0.3 ppm. Accuracy is indicated by recovery, for each pesticide in the range of 80-110% acceptance at a concentration of 0.1 ppm. Analysis of organochlorine pesticides in three commercial snakefruit samples showed no pesticide residues at concentrations higher than the detection limit.

Keywords: Validation, organochlorine, snakefruit, gas chromatography electron capture

PENDAHULUAN

Penggunaan pestisida dalam rangka peningkatan kualitas dan kuantitas produk pertanian seringkali meninggalkan residu yang bertahan sampai produk pertanian menjadi pangan. Residu pestisida tersebut dapat menimbulkan keracunan, bahkan bersifat mutagenik ataupun karsinogenik sehingga membuat pangan menjadi tidak aman. Berdasarkan UU RI No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan, pangan yang aman adalah pangan yang tidak mengandung bahaya biologi atau mikrobiologi, bahaya kimia (termasuk diantaranya residu pestisida) dan bahaya fisik. Dalam rangka memastikan keamanan pangan dan mengatasi kendala dalam sektor agribisnis Indonesia memasuki pasar global, dibutuhkan adanya standarisasi dan sertifikasi produk pangan dan pertanian. Standarisasi mutu produk juga dikaitkan dengan masalah keamanan pangan bagi manusia, hewan dan tumbuhan serta lingkungan. Sertifikasi dapat bermanfaat dalam menjamin kemurnian (*genuineness*) dan kualitas (*quality*) produk agribisnis yang akan dibeli konsumen (Bricher, 2010).

Berdasarkan Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Republik Indonesia No. 753/MPP/Kep/11/2002, sertifikasi produk dapat dilakukan oleh laboratorium pengujian, yaitu laboratorium yang melakukan pengujian terhadap contoh barang sesuai spesifikasi atau metode uji SNI yang diakreditasi oleh Komite Akreditasi Nasional (KAN). Laboratorium terakreditasi memberikan jaminan teknik dan kompetensi untuk melakukan pengujian suatu produk sesuai dengan standar. Faktor yang menentukan kebenaran dan kehandalan pengujian dan/atau kalibrasi yang dilakukan oleh laboratorium terakreditasi salah satunya adalah validasi metode (Komite Akreditasi Nasional, 2005).

Salak merupakan jenis buah tropis asli Indonesia yang merupakan salah satu komoditas unggulan ekspor nasional Indonesia. Di tengah tingginya tingkat permintaan konsumen dalam dan luar negeri, kontrol terhadap kualitas salak sebagai jaminan keamanan pangan menjadi hal yang penting. Pelaku impor akan memperhatikan proses budidayanya, mulai dari penggunaan pupuk, pestisida dan perawatan tanaman secara lengkap. Salak termasuk dalam kategori *minor crop* yang standar baku mutu pestisidanya belum ditentukan, namun demikian keamanan salak terhadap kontaminasi pestisida telah dipertimbangkan di pasar global. Dalam draft *Protocol of Inspection and Quarantine Requirements for the Export of Salacca Fruit from Indonesia to China*, yang menyatakan bahwa sebagai kesiapan membuka ekspor salak ke China maka pihak Indonesia harus mempersiapkan diri untuk memenuhi persyaratan ekspor pemerintah China, salah satunya analisis residu pestisida (Kementerian Pertanian RI, 2012). Hal ini menjadikan tersedianya laboratorium terakreditasi yang

mampu menganalisis residu pestisida tersebut di Indonesia menjadi esensial. Residu pestisida berbahaya yang biasa ditemukan dalam buah antara lain adalah golongan pestisida organoklor dan organofosfat.

Pestisida organoklor adalah kelompok senyawa kimia hidrokarbon terklorinasi yang serbaguna. Pestisida organoklor terdegradasi secara perlahan sehingga akan mempunyai masa tinggal di bahan makanan maupun lingkungan yang lama (Mueller dkk, 2008; Hong dkk, 2008). Keberadaan senyawa organoklor dapat menimbulkan dampak buruk karena sangat beracun, persisten, dan bioakumulatif. Sebagian besar pestisida organoklorin merupakan bahan kimia yang mengganggu endokrin, artinya pestisida ini memiliki efek beracun pada hormon tubuh (Lemaire dkk., 2004). Sertifikasi salak penting dilakukan sebagai jaminan keamanan pangan. Oleh sebab itu, diperlukan adanya suatu metode analisis multiresidu pestisida organoklor dalam salak yang tervalidasi dalam suatu laboratorium terakreditasi antara lain dengan kromatografi gas. Pada analisis pestisida, kromatografi gas memiliki kelebihan penting dibandingkan metode yang lainnya. Kromatografi gas mampu dengan cepat menganalisis campuran pestisida (multiresidu) yang kompleks dan menyediakan identifikasi kualitatif serta analisis kuantitatif yang tepat dari berbagai komponen secara cepat (Ortelli dkk., 2004; Fenoll dkk., 2007).

Penelitian ini melaporkan hasil validasi uji residu pestisida organoklorin dalam buah salak yang akan diajukan untuk akreditasi oleh KAN. Metode kromatografi gas yang digunakan merupakan metode yang sudah dikembangkan sejak lama dan sudah diaplikasikan pada berbagai macam sampel dan memiliki kelebihan dalam hal waktu pelaksanaan yang singkat, dapat digunakan untuk analisis beberapa senyawa sekaligus, serta mempunyai batas deteksi yang sangat rendah (orde ppb). Kinerja kromatografi gas untuk uji residu pestisida organoklorin dalam buah salak belum ditentukan. Pendekatan yang dilakukan adalah melakukan penentuan batas deteksi dan batas kuantifikasi, uji presisi dan akurasi metode dan uji rentang ukur metode dengan target multiresidu dalam satu kali analisis.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, kertas saring dengan diameter ± 110 mm, *blender stainless steel* (Waring commercial), alat gelas (labu takar 10 mL, labu takar 5 mL, corong gelas, corong pisah, botol kaca), alat kromatografi gas (Shimadzu GC-2010) yang dilengkapi dengan penangkap elektron (*electron capture detector/ECD*).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain buah salak varietas Manggala dari Turi, Sleman, Yogyakarta, standar aldrin, dieldrin, p,p-DDT, endosulfan, dan heptaklor dari Aldrich, toluen, 2-propanol (Merck), natrium sulfat anhidrat (Merck), kapas bebas lemak, penjerap campuran berupa campuran antara celite 545 (Merck) dengan Nuchar 190 N (Merck) dengan perbandingan 1:3 b/b.

Metode Uji Residu Organoklor dalam Salak

Buah salak dipotong-potong kemudian ditimbang sejumlah 12,5 gram menggunakan timbangan terkalibrasi, dimasukkan ke dalam blender stainless steel. Sebanyak 12,5 µL larutan standar internal aldrin konsentrasi 200 ppm, 25 mL toluena serta 12,5 mL 2-propanol, ditambahkan ke dalam blender, dan dilumatkan selama minimal 3 menit. Campuran diadukan, cairan dituang ke dalam corong yang telah diberi kapas untuk mendapatkan filtrat. Filtrat dipindahkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 62,5 mL larutan natrium sulfat 2 % dan dikocok selama 1 menit, dibiarkan terpisah menjadi 2 lapisan, lapisan bawah (air) dibuang. Sebanyak 5 mL fase atas dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup kaca, ditambah dengan 0,5 g penjerap. Tabung ditutup dan dikocok kuat-kuat selama 1-2 menit, setelah itu disaring melalui kertas saring.

Sebanyak 1 µL sampel hasil *clean up* diinjeksikan ke alat kromatografi gas. Kondisi kromatografi yang digunakan adalah kolom RTX-1301 (30 m i.d 0,25 mm); dengan temperatur kolom dimulai pada 230 °C dilanjutkan kenaikan 3 °C/menit selama 15 menit; temperatur injektor: 270 °C dan temperatur detektor ECD 300 °C; laju gas pembawa Helium 30 mL/menit.

Masing-masing luas area puncak senyawa target pestisida dan luas area puncak standar internal (aldrin) ditentukan, untuk mencari perbandingan luas area senyawa target pestisida dengan luas area standar internal. Kadar masing-masing pestisida dalam sampel yang diinjeksi dihitung dengan memasukkan nilai perbandingan luas area puncak ke persamaan regresi untuk senyawa standar yang sesuai. Kadar pestisida sampel dihitung dari konsentrasi yang yang diinjeksikan dengan memperhatikan faktor pengenceran yang terjadi selama penyiapan sampel.

Validasi Metode Uji

Validasi metode dilakukan berdasarkan *guideline* yang diterbitkan oleh AOAC (AOAC, 1998) dan Eurachem (Eurachem, 1998) dengan perincian sebagai berikut:

Uji spesifisitas dan selektivitas. Uji spesifisitas dilakukan dengan cara melakukan preparasi untuk sampel salak sesuai dengan metode yang divalidasi, dispiking dengan

12,5 µL standar internal aldrin 200 ppm. Hasil diinjeksi ke GC pada kondisi optimasi. Kromatogram yang dihasilkan dibandingkan dengan kromatogram senyawa standar. Hasil yang diharapkan adalah pada waktu retensi heptaklor, aldrin, endosulfan, dieldrin dan p,p-DDT tidak ditemukan puncak lain. Uji selektivitas dilakukan dengan menghitung resolusi antar puncak pestisida dalam kromatogram dengan rumus:

$$R_s = \frac{t_R^A - t_R^B}{0,5(W_A + W_B)}$$

dimana B adalah pestisida yang terelusi terlebih dahulu dibanding pestisida A,

t_R^A : waktu retensi analit A W_A : lebar dasar puncak A

t_R^B : waktu retensi analit B W_B : lebar dasar puncak B

R_s : resolusi

Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Sampel blanko (salak tanpa spiking) dan sampel spiking (dispiking dengan konsentrasi analit terkecil) dipersiapkan. Masing-masing dilakukan 10 kali replikasi. Semua sampel diperlakukan sebagaimana dalam metode yang divalidasi. Respon detektor dicatat dan ditentukan nilai SD-nya. LOD dihitung sebagai konsentrasi yang memberikan 3 x SD sedangkan LOQ dihitung sebagai konsentrasi yang memberikan respon 10 x SD.

Penentuan range linier. Sampel spiking dengan masing-masing standar dibuat sebanyak 6 variasi konsentrasi (misal untuk pp-DDT = 0,20; 0,60; 0,90; 1,30; 1,60; dan 2,00 ppm) dengan konsentrasi aldrin 0,10 ppm untuk semua sampel. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali. Preparasi sampel spiking dilakukan sesuai dengan metode yang divalidasi. Rata-rata perbandingan luas area puncak pestisida dan aldrin ditentukan untuk masing-masing konsentrasi spiking. Ditentukan nilai koefisien korelasi (r) antara konsentrasi pestisida dengan perbandingan luas area rata-rata dibuat. Bila nilai r tidak memenuhi nilai linier secara statistik maka dilakukan pengulangan dengan merubah rentang konsentrasi yang dipakai.

Penentuan presisi metode. Presisi ditentukan dengan menggunakan uji repetabilitas. Penentuan repetabilitas dilakukan dengan melakukan pengujian serial sampel spiking pada kondisi yang sama, yaitu analisis sama, alat dan laboratorium sama dan waktu pengujian yang hampir bersamaan. Sampel spiking dibuat dengan konsentrasi pestisida tertentu dalam range linier dan konsentrasi aldrin tetap 0,1 ppm, sebanyak 10 kali pengulangan. Masing-masing sampel dianalisis dengan metode yang divalidasi. Perbandingan luas area antara pestisida dan aldrin pada setiap konsentrasi dan pengulangan ditentukan. Perbandingan luas

area rata-rata untuk setiap konsentrasi spiking dihitung dan ditentukan SD serta kovarian (KV) untuk masing-masing konsentrasi spiking.

Penentuan akurasi dengan menentukan rekoverti metode. Sampel spiking pestisida dan aldrin (standar internal) disiapkan sebanyak 6 replikasi. Sampel spiking diekstrak dengan metode yang divalidasi. Hasil ekstraksi dan larutan standar diinjeksikan ke GC. *Recovery* dihitung dengan membandingkan rasio luas area pestisida dengan luas area standar internal hasil preparasi sampel spiking dengan rasio luas area puncak pestisida dengan standar internal dalam larutan standar yang langsung diinjeksikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Terpadu (LPPT) Unit I Universitas Gadjah Mada. Prosedur validasi dilakukan terhadap metode analisis multiresidu pestisida organoklorin dalam matriks non lemak yang diadopsi dari Analytical Methods for Residues of Pesticides, Ministry of Welfare, Health and Cultural Affairs, yang telah di terima dalam JMPR (*Joint Meeting FAO-WHO on Pesticide Residue*) (Ministry of Welfare, Health and Cultural Affairs Netherland, 1988 dan FAO-WHO, 1999).

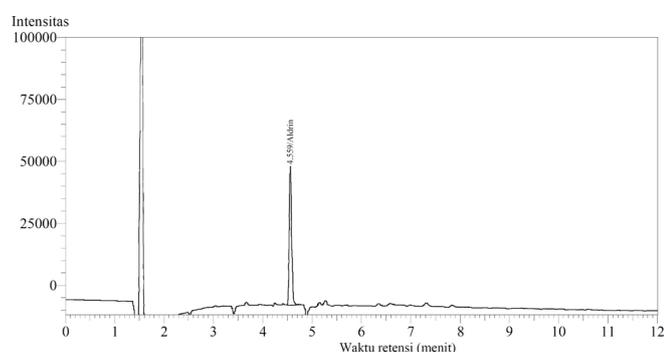
Metode ini meliputi tahapan-tahapan ekstraksi, *clean up* dan analisis menggunakan kromatografi gas dengan detektor penangkap elektron. Ekstraksi menggunakan pelarut yang digunakan adalah toluen dan 2-propanol. Residu pestisida organoklorin dalam salak yang bersifat non polar akan terlarut ke dalam toluen. Tahapan *clean up* yang dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengganggu seperti pigmen dan lemak. Proses *clean up* menggunakan penjerap campuran yang terdiri atas celite 545 dan Nuchar yang merupakan karbon aktif. Fungsi utama karbon aktif adalah untuk menghilangkan senyawa pengganggu polar melalui sifat adsorpsi. Senyawa pengganggu yang bersifat non polar dan jumlahnya berlebih akan terikat pada celite. Tahap terakhir metode adalah analisis dengan menggunakan kromatografi gas-detektor penangkap elektron. Pada penelitian ini digunakan aldrin sebagai standar internal. Tujuan ditambahkannya standar internal pada pestisida yang dianalisis untuk memperkecil faktor kesalahan hasil analisis dimana standar internal digunakan sebagai pembanding tetap untuk konsentrasi atau kadar dalam larutan sampel ataupun larutan standar. Dalam hal ini konsentrasi aldrin yang digunakan adalah 0,1 ppm. Untuk kromatografi gas yang digunakan kolom RTX-1301 (crossbond 6% cyanopropilfenil-94% dimetil polisiloksan) yang memiliki sifat polaritas rendah sampai sedang, biasanya

diaplikasikan pada senyawa-senyawa volatil, insektisida, serta residu pelarut dalam produk farmasi sehingga sesuai untuk memisahkan senyawa insektisida organoklorin yang bersifat nonpolar karena komponen-komponen dalam sampel dapat berinteraksi dengan fase diamnya lebih lama.

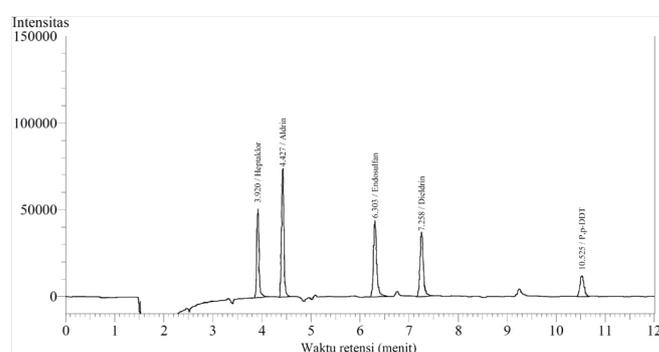
Spesifisitas dan Selektivitas Metode Analisis

Spesifisitas metode dapat ditentukan dengan membandingkan kromatogram campuran larutan standar dengan kromatogram blanko (hasil preparasi salak tanpa spiking pestisida). Metode dikatakan spesifik apabila tidak ada puncak pada kromatogram blanko yang mempunyai waktu retensi sama dengan waktu retensi puncak-puncak pada kromatogram larutan standar (heptaklor, endosulfan, dieldrin dan p,p-DDT). Perbandingan kromatogram sampel blanko dengan larutan standar dimaksud ditunjukkan pada Gambar 1. Kromatogram sampel salak tanpa spiking pestisida yang dipreparasi dan dianalisis dengan metode yang divalidasi (Gambar 1.a) tidak memberikan satu puncak pun yang mempunyai waktu retensi yang sama atau berbedakatan dengan puncak pestisida standar target analisis. Sedangkan waktu retensi standar internal dan pestisida target analisis juga mempunyai waktu retensi yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup spesifik, dimana proses ekstraksi terhadap salak yang mengandung pestisida hanya mengambil senyawa pestisida dan bukan senyawa lain dalam salak yang mempunyai waktu retensi sama, atau kemungkinan lain dalam salak tidak terdapat senyawa yang mempunyai waktu retensi sama atau mirip dengan pestisida organoklorin yang diuji yang dapat mengganggu proses kuantifikasi. Waktu retensi pestisida yang diperoleh untuk setiap pengulangan tidak jauh berbeda dengan pengulangan yang lain, padahal pergeseran waktu retensi untuk senyawa yang sama dapat dimungkinkan akibat berbagai pengaruh, seperti keadaan alat kromatografi gas (kestabilan suhu, dan aliran gas ataupun pengaturan tekanan) serta perbedaan dalam proses preparasi larutan. Hal ini dapat menjadi indikasi kondisi kromatografi gas yang digunakan mempunyai kehandalan yang baik.

Untuk keperluan analisis multiresidu, selektivitas metode merupakan faktor yang sangat penting. Selektivitas menunjukkan bagaimana analisis terhadap suatu residu pestisida tidak terpengaruh oleh keberadaan pestisida target yang lain. Dalam kromatografi, selektivitas ditunjukkan oleh parameter resolusi puncak (R_s). Suatu pemisahan senyawa secara kromatografi dikatakan mempunyai selektivitas baik atau terpisah sempurna apabila mempunyai nilai $R_s > 1,5$. Nilai $R_s = 1,5$ merupakan nilai minimal yang menunjukkan bahwa di antara dua puncak terdapat baseline kromatogram yang berarti kedua puncak terpisah sempurna (Miller dan Miller, 2005). Hasil penentuan nilai R_s yang diperoleh pada



(a)



(b)

Gambar 1. Kromatogram hasil analisis sampel salak dispiking dengan standar internal aldrin (a); dan kromatogram hasil analisis salak dispiking dengan pestisida target analisis (b)

penelitian ini disajikan pada Tabel 1. Nilai resolusi puncak yang diperoleh dalam Tabel 1 semuanya memiliki nilai lebih besar dari 1,5, sehingga dapat dikatakan metode ini memiliki selektivitas yang memenuhi kriteria untuk analisis dengan kromatografi.

Tabel.1. Data hasil perhitungan resolusi antar puncak pestisida berdekatan

Replikasi	Rs Ald-Hep	Rs End-Al	Rs Die-End	Rs Die-DDT
1	2,024	6,432	2,862	11,194
2	2,028	5,997	2,699	11,194
3	1,738	5,297	2,696	11,201
rata-rata	1,930	5,905	2,753	11,196

Keterangan: Ald: aldrin; Hep: heptaklor; End: endosulfan; Die: dieldrin; DDT p,p-DDT

Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi dalam penelitian ini dilakukan secara bersamaan karena keduanya terdapat hubungan yang kuat. Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil yang dapat dideteksi oleh metode, sedangkan batas kuantitasi didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil yang dapat diukur secara kuantitatif. Secara statistik perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi diperoleh melalui persamaan garis regresi linier dari kurva standar pestisida. Hasil penentuan nilai batas deteksi dan batas kuantitasi yang diperoleh disajikan pada Tabel 2. Nilai batas deteksi untuk keempat pestisida dalam penelitian ini berada di bawah nilai batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan oleh pemerintah Indonesia dalam Standar Nasional Indonesia untuk heptaklor 0,01 ppm, endosulfan 2 ppm, dieldrin 0,05 ppm, dan p,p-DDT 1 ppm (BSN, 2008). Dengan demikian, metode ini dapat dikatakan mampu menganalisis sampel yang memiliki kandungan residu pestisida organoklor yang memiliki konsentrasi sama atau lebih besar dari BMR.

Tabel 2. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi

Senyawa	Heptaklor	Endosulfan	Dieldrin	p,p-DDT
Batas deteksi	2 ppb	0,51 ppm	0,60 ppb	14 ppb
Batas kuantitasi	6 ppb	1,71 ppm	2 ppb	47 ppb

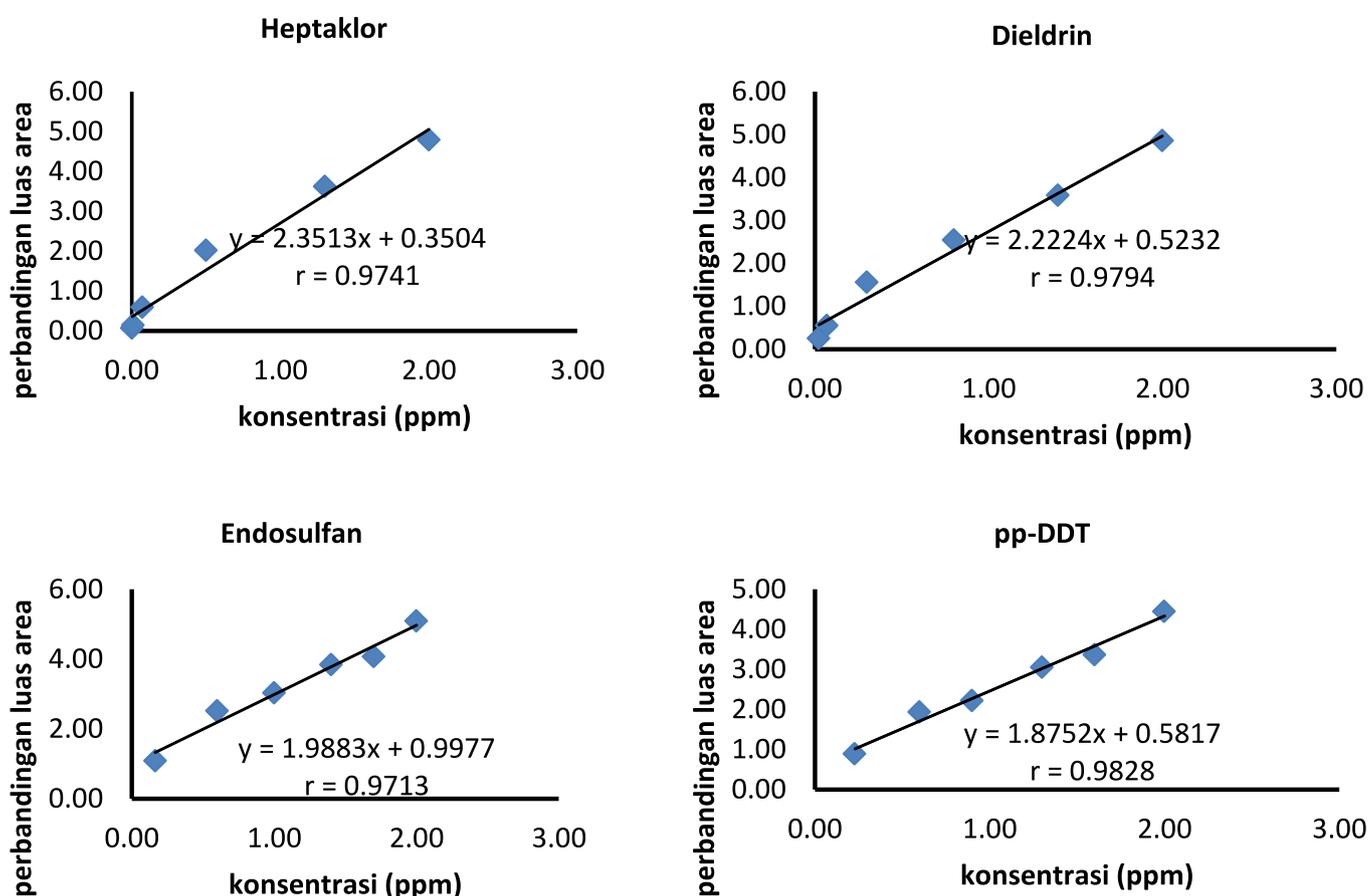
Range Linier

Penentuan range linier dilakukan melalui penambahan spiking standar pestisida masing-masing dengan 6 variasi konsentrasi ke dalam sampel salak. Sampel kemudian dianalisis dengan metode yang divalidasi. Kurva hubungan antara konsentrasi dengan rasio luas area pestisida terhadap luas area standar internal pada hasil analisis digunakan untuk menunjukkan range linier ditampilkan pada Gambar 2. Heptaklor memiliki range linier pada konsentrasi 0,0017-2 ppm, endosulfan pada 0,165-2 ppm, dieldrin pada 0,023-2 ppm, sedangkan p,p-DDT pada 0,229-2 ppm. Nilai koefisien korelasi (r) untuk kurva heptaklor adalah 0,9869; endosulfan 0,9855; dieldrin 0,9896 dan p,p-DDT 0,9914. Nilai koefisien korelasi r untuk semua standar secara statistik lebih besar dari nilai yang dipersyaratkan (nilai r tabel) yang mempunyai nilai 0,707 untuk N = 6 pada tingkat kepercayaan 95% (Miller dan Miller, 2005).

Nilai range linier ini menunjukkan bahwa metode dapat digunakan pada range kerja konsentrasi pestisida dalam salak untuk range yang cukup lebar. Selain itu nilai BMR masing-masing pestisida juga berada dalam range linier dimaksud.

Presisi Metode

Uji presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel. Pengujian dilakukan dengan metode pengulangan sehingga diperoleh ketepatan sistem dan memberikan respon terhadap analit terdeteksi. Sebagai syarat keberterimaan digunakan persamaan koefisien variasi Horwitz sesuai AOAC, presisi



Gambar 2. Kurva perbandingan luas area pestisida dengan standar internal terhadap konsentrasi pestisida yang dispike ke sampel salak yang menunjukkan range linier metode uji

suatu metode dikatakan memenuhi syarat keberterimaan jika nilai %RSD lebih kecil dari $2^{(1-0,5\log C)} \times 2/3$ (González dan Herrador, 2007). Uji presisi dilakukan dengan menginjektikan larutan sebanyak 10 kali. Berdasarkan hasil uji presisi diperoleh data pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai %RSD untuk heptaklor sebesar 3,91; endosulfan sebesar 2,81; dieldrin sebesar 2,82 dan p,p-DDT sebesar 7,82. Nilai tersebut memenuhi persyaratan AOAC, $RSD < 2^{(1-0,5\log C)} \times 2/3$, yakni 12,78. Hal ini menginformasikan bahwa metode yang divalidasi memiliki nilai presisi yang baik dengan respon yang relatif konstan, sehingga nilai presisi yang diperoleh masuk dalam batas keberterimaan.

Akurasi

Berbeda dengan presisi yang merujuk pada ketelitian, akurasi merujuk pada pengertian ketepatan atau kecermatan. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa metode terpilih memiliki

Tabel 3. Data hasil uji presisi metode dengan uji repetabilitas

Jumlah replikat	Hep/Ald	End/Ald	Die/Ald	DDT/Ald
1	1,373	1,751	1,501	0,829
2	1,410	1,696	1,524	0,955
3	1,309	1,566	1,402	0,791
4	1,439	1,688	1,546	1,038
5	1,408	1,682	1,531	0,916
6	1,437	1,717	1,537	0,948
7	1,438	1,707	1,526	0,952
8	1,505	1,725	1,523	0,922
9	1,483	1,659	1,505	0,898
10	1,457	1,698	1,553	0,990
Rata-rata	1,426	1,689	1,515	0,924
SD	0,055	0,047	0,043	0,072
RSD (%)	3,914	2,806	2,821	7,817
Keberterimaan $RSD < 2^{(1-0,5\log C)} \times 2/3$	<12,780	<12,780	<12,780	<12,780

Keterangan: Ald: aldrin; Hep: heptaklor; End: endosulfan; Die: dieldrin; DDT: p, p-DDT

Tabel 4. Data hasil uji akurasi

Replikat	%Recovery eptaklor	%Recovery Endosulfan	%Recovery Dieldrin	%Recovery p,p-DDT
1	99,28	94,04	91,50	97,32
2	91,99	87,75	86,93	92,54
3	97,46	93,17	89,85	93,65
4	97,64	88,56	87,58	90,05
5	104,35	100,36	96,27	92,45
6	104,32	94,93	98,60	98,45
Rata-rata	99,17	93,13	91,79	94,08
SD	4,69	4,61	4,72	3,20
%RSD	4,73	4,95	5,15	3,40
%RSD dari $2^{(1-0,5\log C)} \times 2/3$	15,08	15,08	15,08	15,08

kisaran % perolehan kembali (% *recovery*) yang menyatakan tingkat akurasi yang memenuhi syarat keberterimaan. Nilai *recovery* yang mendekati 100% menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki ketepatan yang baik dalam menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya. Hasil akurasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan nilai % *recovery* heptaklor pada rentang 91-104%, endosulfan pada rentang 87-100%, dieldrin pada rentang 86-98% sedangkan p,p- DDT pada rentang 90-98%. Persen *recovery* yang diizinkan untuk rasio analit pada unit 100 ppb, yakni 80-110% (Eurachem, 1998). Dengan demikian % *recovery* yang diperoleh dari penelitian ini untuk masing-masing pestisida telah memenuhi syarat, yakni masuk dalam batas 80-110%. Nilai *recovery* hasil pengujian menunjukkan kecenderungan terjadinya kesalahan acak, dimana nilai % *recovery* yang dihasilkan berada di bawah dan di atas 100%. Namun demikian presisi hasil *recovery* masih menunjukkan nilai yang berada dalam batas keberterimaan, tertinggi 5,15% untuk dieldrin dengan batas keberterimaan maksimal 15,08%.

Analisis Residu Pestisida Organoklorin dalam Salak Komersial

Metode yang telah divalidasi digunakan untuk pemantauan kontaminasi pestisida pada salak komersial. Analisis residu pestisida ini dilakukan pada sampel salak yang berasal dari tiga area yang berbeda di Sleman, Yogyakarta. Sampel salak dipreparasi dengan tahapan analisis metode yang divalidasi yang meliputi ekstraksi, *clean up* serta analisis dengan kromatografi gas-detektor penangkap elektron. Hasil analisis terhadap ketiga sampel salak menunjukkan tidak adanya puncak residu pestisida pada kromatogram ketiga sampel salak. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga sampel salak mengandung residu pestisida dibawah batas deteksi metode (heptaklor < 2 ppb, endosulfan < 0,51 ppm, dieldrin < 0,60 ppb dan p,p-DDT < 14 ppb) atau dapat dikatakan tidak

ada residu pestisida organoklorin dalam ketiga sampel salak berdasarkan metode yang dikembangkan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa metode kromatografi gas dengan detektor penangkap elektron dapat digunakan untuk melakukan analisis multiresidu pestisida organoklorin (heptaklor, endosulfan, dieldrin dan p,p-DDT) dalam salak sebagai metode standar. Hasil validasi menunjukkan bahwa metode ini tergolong selektif dan spesifik, memiliki batas deteksi di bawah BMR, memiliki presisi serta akurasi yang baik, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ini dapat digunakan untuk akreditasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh kegiatan pengembangan kompetensi baru untuk akreditasi LPPT-UGM melalui RKAT 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (1998). *Peer-Verified Methods, Policies and Procedures*. AOAC International. Arlington.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN) (2008). *Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian*, SNI 7313:2008, Badan Standardisasi Nasional.
- Bricher, J.L. (2010). Chapter 1-Ensuring Global Food Safety-A Public Health Priority and a Global Responsibility. *Ensuring Global Food Safety*. Elsevier, Amsterdam.
- Eurachem (1998). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. LGC (Teddington) Ltd.

- FAO/WHO. (1999). *Pesticide Residues in Food Evaluations*. Part I-Residues. FAO Plant Production and Protection Paper. The United Nations, Rome.
- Fenoll, J., Hellín, P., Martínez, C.M., Miguel, M. Dan Flores, P. (2007). Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection. *Food Chemistry* **105**: 711-719.
- González, A.G. dan Herrador, M.A. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **26**: 227-238.
- Hong, S.H. Yim, U.H., Shim, W.J., Oh, J.R., Viet, P.H. dan Park, P.S. (2008). Persistent organochlorine residues in estuarine, and marine sediments from Ha Long Bay, Hai Phong Bay, and Ba Lat Estuary, Vietnam. *Chemosphere* **72**: 1193-1202.
- Kementrian Pertanian RI (2012). Meeting The Requirements of International Market for Salacca. http://www.eoq.hu/iama/conf/1202_paper.pdf. [27 Januari 2013].
- Komite Akreditasi Nasional (KAN). (2005). *ISO/IEC 17025 (Versi Bahasa Indonesia) Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi, Edisi kedua*, diterjemahkan oleh Komite Akreditasi Nasional.
- Lemaire, G., Terouanne, B., Mauvais, P., Michel, S. dan Rahmania, R. (2004). Effect of Organochlorine Pesticides on Human Androgen Receptor Activation in Vitro. *Toxicol. Appl. Pharm.* **196**: 235– 246.
- Miller, J.N. dan Miller J.C. (2005). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 5th Edition. Pearson Education Limited, England.
- Ministry of Welfare, Health and Cultural Affairs. (1988). *Analytical Methods for Residues of Pesticides*, 5th edn., SDU Publishers, Rijswijk, The Netherlands.
- Mueller, J.F., Harden, F., Toms, L-M., Symons, R. Dan Fürst, P. (2008). Persistent organochlorine pesticides in human milk samples from Australia. *Chemosphere* **70**: 712-720.
- Ortelli, D., Edder, P. dan Corvi, C. (2004). Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **520**: 33-45.