



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**STUDI PENAMBAHAN (*SPIKING*) ANALIT ( $\alpha$ -ENDOSULFAN  
DAN BIFENTRIN) DAN PROSES HOMOGENISASI PADA  
PENGEMBANGAN BAHAN ACUAN PESTISIDA DALAM  
TEH HITAM**

**TESIS**

**DYAH STYARINI  
0906495280**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM PASCA SARJANA  
DEPOK  
2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**STUDI PENAMBAHAN (*SPIKING*) ANALIT ( $\alpha$ -ENDOSULFAN  
DAN BIFENTRIN) DAN PROSES HOMOGENISASI PADA  
PENGEMBANGAN BAHAN ACUAN PESTISIDA DALAM  
TEH HITAM**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Sains**

**DYAH STYARINI  
0906495280**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM PASCA SARJANA  
DEPOK  
2012**

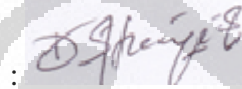
## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Dyah Styarini

NPM : 0906495280

Tanda Tangan :



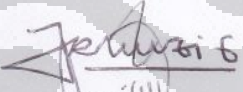

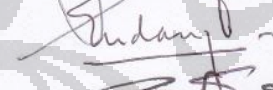
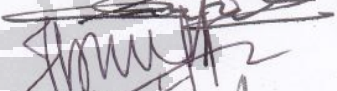


Tanggal : Januari 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Dyah Styarini  
NPM : 0906495280  
Program Studi : Kimia  
Judul Tesis : Studi Penambahan (*Spiking*) Analit ( $\alpha$ -Endosulfan dan Bifentrin) dan Proses Homogenisasi pada Pengembangan Bahan Acuan Pestisida dalam Teh Hitam

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Jarnuzi Gunlazuardi (  )  
Pembimbing : Dr. Julia Kantasubrata (  )  
Penguji : Prof. Dr. Endang Asijati (  )  
Penguji : Dr. Asep Saefumillah (  )  
Penguji : Dr. Yuni K. K. (  )  
Penguji : Dr. Emil Budianto (  )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 12 Januari 2012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah S.W.T, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Master Sains Jurusan Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

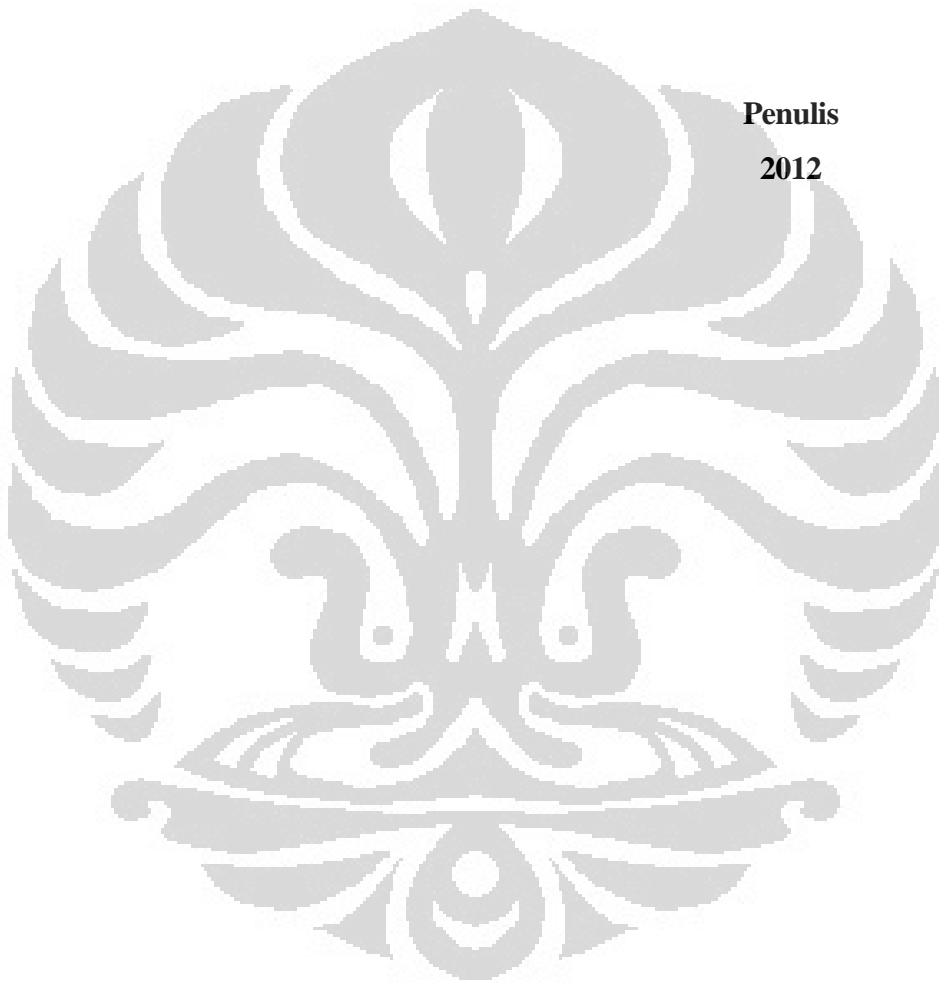
Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Dr. Jarnuzi Gunlazuardi, selaku dosen pembimbing I dan Dr. Julia Kantasubrata, selaku pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
- (2) Dr. Endang Saepudin, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Kimia, Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia;
- (3) Dr. Linar Zalinar Udin, selaku Kepala Pusat Penelitian Kimia – LIPI dan Ibu Retno Yusiasih, M.S. selaku Kepala Bidang Kimia Analitik dan Standar yang telah memberikan kesempatan melakukan penelitian di laboratorium Kimia Analitik dan Standar, Puslit Kimia – LIPI;
- (4) Saudara/i Nuryatini M.S, Sajekti Eka, Yosi Aristiawan S.Si, Sujarwo S.Si, Nurhani Aryana M.Si., Eli Susilawati dan rekan-rekan di Puslit Kimia – LIPI yang senantiasa memberikan bantuan dan semangat bagi penulis melakukan penelitian tugas akhir;
- (5) Orang tua dan keluarga saya tercinta, Dian Kurniawan Syahputra (suami), Aulia Rahmania dan Amira Fathiyah (Putri-putri tersayang) yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral serta telah memberikan perhatian yang tulus; dan
- (4) Sahabat-sahabat yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan tesis ini;

Seluruh Dosen dan karyawan jurusan kimia FMIPA-UI. Rekan-rekan mahasiswa S2 yang telah memberi bantuan dan dorongan semangat kepada penulis. Semua pihak yang telah memberikan bantuan selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Akhir kata, saya berharap Allah S.W.T berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

**Penulis**  
**2012**



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

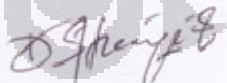
Nama : Dyah Styarini  
NPM : 0906495280  
Program Studi : Pasca Sarjana  
Departemen : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :  
Studi Penambahan (Spiking) Analit ( $\alpha$ -Endosulfan dan Bifentrin) dan Proses Homogenisasi pada Pengembangan Bahan Acuan Pestisida dalam Teh Hitam

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 12 januari 2012  
Yang menyatakan



( Dyah Styarini )

## ABSTRAK

Nama : Dyah Styarini  
Program Studi : Pasca Sarjana Kimia  
Judul : Studi Penambahan (*Spiking*) Analit ( $\alpha$ -Endosulfan dan Bifentrin) dan Proses Homogenisasi pada Pengembangan Bahan Acuan Pestisida dalam Teh Hitam

Telah dilakukan pengembangan bahan acuan pestisida golongan organoklorin ( $\alpha$ -endosulfan) dan piretroid (bifentrin) pada matriks teh hitam. Kemampuan analisis secara akurat, tertelusur, serta tersedianya nilai estimasi ketidakpastian hasil analisisnya menjadi mutlak dibutuhkan untuk melindungi konsumen dari bahaya residu pestisida yang melebihi ambang batas aman pada teh yang dikonsumsi dan mencegah adanya *Trade Barrier* (pencekalan/pelarangan) atas produk ekspor teh Indonesia. Penelitian ini dilakukan atas dasar belum tersedianya bahan acuan residu pestisida di Indonesia. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mempelajari teknik *spiking* dan proses homogenisasi pada matriks padatan dalam rangka pengembangan bahan acuan pestisida golongan organoklorin dan piretroid dalam matriks teh serta proses validasi metoda analisisnya. Dari pengembangan metoda analisa yang dilakukan menunjukkan bahwa metoda yang digunakan memiliki nilai perolehan kembali dan presisi yang cukup baik untuk kedua analit target, yaitu  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin, masing-masing adalah sebesar 77,34% dan 96,18 %, sedangkan presisi metoda yang ditunjukkan dengan nilai %RSD untuk  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing adalah sebesar 17,61 % dan 16,09 % dimana nilai keduanya lebih kecil dari nilai CV Horwitz. Sedangkan kandidat bahan acuan disiapkan menggunakan bahan teh dengan ukuran partikel 150 – 106  $\mu\text{m}$  dan kadar air 5,99%. Larutan analit ( $\alpha$ -Endosulfan dan bifentrin) dalam heksana ditambahkan kedalam rendaman matriks teh dalam heksana, lalu dikeringkan sesuai kaidah sehingga diperoleh bubuk induk kandidat bahan acuan. Bubuk induk ini kemudian dicampurkan, sesuai kaidah, dengan material teh untuk mendapatkan kandidat bahan acuan akhir. Terhadap kandidat bahan acuan akhir diuji homogenitas kandungan analitnya. Hasil uji menunjukkan bahwa kandidat bahan acuan akhir yang dibuat tergolong homogen (uji ANOVA satu arah dengan  $n = 8$ , tingkat kepercayaan 95%), memiliki nilai kadar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing sebesar 380,32 ( $\pm 97,43$ ) ng/g dan 522,74 ( $\pm 129,26$ ) ng/g per berat kering dan nilai kadar air kandidat bahan acuan sebesar 5,99 %. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu meningkatkan mutu hasil pengujian pestisida dalam teh, di Indonesia.

Kata Kunci : Bahan Acuan,  $\alpha$ -Endosulfan, Bifentrin, Teh, Spiking  
xiii+97 halaman : 25 gambar; 31 tabel  
Daftar Pustaka : 54 (1975-2010)



## ABSTRACT

Name : Dyah Styarini  
Program Study : Magister in Chemistry  
Title : Study of the Spiking of Analytes ( $\alpha$ -Endosulfan and Bifenthrin) and Homogenization Process on the Development of Reference Material of Pesticide Residue in Black Tea

Development of reference material for organochlorine pesticides ( $\alpha$ -endosulfan) and pyrethroids (bifenthrin) in black tea as a matrix has been conducted. An accurate, traceable and well estimated uncertainty of analytical method is necessary to protect properly consumers from the possibly harmful effect of pesticide residues. The proper reference material and its analytical method may also prevents unnecessary Trade Barrier (bans/restrictions) on Indonesian tea product by foreign authority during export activity . This research was conducted on the basis that such reference materials were not available at present in Indonesia. The purpose of this research was to study spiking technique and homogenization process in order to develop a good and proper reference material of organochlorine and pyrethroid pesticides in tea matrix. In paralel the analytical method and validation process were also developed. In respect to  $\alpha$ -endosulfan and bifentrin, the result indicated tha the analytical method being used has a good recovery values, these are 77,34 % and 96,18 %, respectively. While the precision of the developing method was also quite good, having % RSD values of 17,61 % and 16,09 %, for the  $\alpha$ -endosulfan and bifentrin respectively, which is smaller than the CV Horwitz value. The reference material candidat was prepared by grinding tea leaf to have particle size of 150-106  $\mu\text{m}$  and water content of 5.99%. Hexane solution of the analytes ( $\alpha$ -Endosulfan and bifentrin), were spiked in to hexane macerated the grinded tea leaf, then was dried properly to have initial candidate reference material (iCRM) powder. The iCRM then was mixed properly with the grinded tea material to get final candidate standard reference material (fCRM) powder. Employing developed analytical method, the fCRM was subjected to homogeneity test. The result indicated that the fCRM was considered to be homogeneous (one way ANOVA test,  $n = 8$ , at confidence level of 95%), having  $\alpha$ -endosulfan and bifentrin concentration of 380,32 ( $\pm 97,43$ ) ng/g and 522,74 ( $\pm 129,26$ ) ng/g dry weight basis (5,99 % water content), respectively. The present research results may contribute to level up the national quality of pesticide analysis in tea products.

Key words : Reference Material,  $\alpha$ -Endosulfan, Bifentrin, Tea, Spiking  
xiii+97 pages : 25 pictures; 31 tables  
Daftar Pustaka : 54 (1975-2010)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vi
ABSTRAK .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTARTABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Hipotesis.....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.5 Ruang Lingkup Penelitian.....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Metrologi Kimia .....	7
2.1.1 Ketertelusuran.....	9
2.1.2 Estimasi Ketidakpastian.....	11
2.2 Bahan Acuan.....	13
2.3 Teh Sebagai Matriks.....	17
2.4 Pestisida Organoklorin dan Piretroid.....	18
2.4.1 $\alpha$ -Endosulfan.....	19
2.4.2 Bifentrin.....	20
2.5 Riset Pengembangan Metoda Analisis dan Pembuatan Bahan Acuan yang Pernah Dilakukan.....	22
2.6 GC-ECD.....	25
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
3.2 Bahan dan Alat.....	28
3.2.1 Bahan.....	28
3.2.2 Peralatan.....	28
3.3 Prosedur Penelitian.....	29
3.3.1 Optimasi dan Validasi Metoda Analisis Residu Pestisida dalam Matriks Teh.....	30
3.3.1.1 Optimasi Kondisi Pemisahan pada GC-ECD, Pemisahan dan Pemurnian.....	30
3.3.1.2 Validasi Metode.....	32

3.3.2	Peyiapan Kandidat Bahan Acuan.....	34
3.3.3	Uji Homogenitas.....	35
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
4.1	Optimasi Kondisi Pemisahan di GC-ECD dan Modifikasi Metoda Analisis.....	36
4.1.1	Kromatogram GC-ECD Larutan Standar $\alpha$ -Endosulfan dan Bifentrin.....	37
4.1.2	Ulasan Metoda Analisis.....	39
4.2	Validasi Metoda Analisis Residu Pestisida dalam Teh.....	43
4.2.1	Limit Deteksi.....	43
4.2.2	Selektivitas.....	44
4.2.3	Linearitas.....	45
4.2.4	Perolehan Kembali dan Presisi.....	46
4.2.5	Performa Metoda pada Kegiatan Uji Profisiensi Antar Laboratorium.....	47
4.3	Estimasi Ketidakpastian.....	49
4.3.1	Mendefinisikan Apa yang Akan Diukur.....	50
4.3.2	Mengidentifikasi Sumber Ketidakpastian.....	50
4.3.3	Menghitung Ketidakpastian Standar.....	51
4.3.4	Menghitung Ketidakpastian Standar Gabungan.....	53
4.3.4.1	$C_x$ .....	53
4.3.4.2	$C_{20}$ .....	54
4.3.4.3	fp (Faktor Pengenceran).....	56
4.3.4.4	Berat Sampel ( $W_{spl}$ ).....	57
4.3.4.5	Kadar Air (M).....	57
4.3.4.6	Perolehan Kembali (Rec).....	58
4.3.4.7	Repeatabilitas Metoda (Repx).....	61
4.3.5	Menghitung Ketidakpastian yang Diperluas.....	61
4.4	Aplikasi Metoda Analisis yang Telah Dimodifikasi Pada Teh Hitam.....	62
4.5	Ketertelusuran.....	65
4.6	Penyiapan Kandidat Bahan Acuan.....	65
4.6.1	Pengumpulan, Penyortiran, Penghalusan Material Dan Pengayakan.....	66
4.6.2	Spiking.....	67
4.7	Uji Homogenitas.....	70
4.8	Nilai Ketidakpastian Hasil Analisis pada Uji Homogenitas.....	71
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>76</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>78</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bagan Ketertelusuran Hasil Analisis Kimia.....	11
Gambar 2.2	Ilustrasi konsep ketidakpastian yang digambarkan merupakan suatu rentang (U), dan mencakup nilai benar (X).....	12
Gambar 2.3	Jenis-jenis data sumber ketidakpastian dan cara konversinya untuk mendapatkan ketidakpastian baku ( $\mu$ ).....	12
Gambar 2.4	Langkah-langkah utama dalam pembuatan bahan acuan.....	16
Gambar 2.5	Tanaman teh.....	18
Gambar 2.6	Struktur senyawa Endosulfan.....	20
Gambar 2.7	Struktur molekul bifentrin.....	21
Gambar 2.8	Bagan Kromatografi Gas.....	25
Gambar 2.9	Bagan Detektor Penangkap Elektron .....	27
Gambar 3.1	Skema Kerja .....	29
Gambar 4.1	Kromatogram standar $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin.....	37
Gambar 4.2	Kurva kalibrasi bifentrin (A) dan $\alpha$ -Endosulfan (B).....	39
Gambar 4.3	Grafik fraksionasi $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin menggunakan kolom silika dan campuran heksan:etil asetat (90:10) sebagai eluen.....	41
Gambar 4.4	Grafik Fraksionasi $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin menggunakan kolom florisil dan campuran heksan:dietil eter (85:15) sebagai eluen.....	41
Gambar 4.5	Kromatogram $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada IDL.....	43
Gambar 4.6	Kromatogram $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada MDL.....	44
Gambar 4.7	Kromatogram hasil ekstrak sampel teh hijau yang mengandung $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin .....	45
Gambar 4.8	Linieritas metoda analisis untuk senyawa $\alpha$ -endosulfan(A) dan bifentrin (B).....	46
Gambar 4.9	Kromatogram hasil analisis sampel teh kandidat bahan acuan yang dioverlay dengan kromatogram standar.....	62
Gambar 4.10	Kromatogram hasil ekstraksi sampel teh hitam menggunakan campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v).....	64
Gambar 4.11	Distribusi ukuran partikel teh yang telah dihaluskan.....	66
Gambar 4.12	Material teh yang telah direndam dengan pelarut A) Aseton dan B) n-heksan.....	68
Gambar 4.13	Diagram <i>fish bone</i> komponen ketidakpastian.....	73
Gambar 4.14	Hasil uji homogenitas senyawa $\alpha$ -endosulfan pada kandidat bahan acuan.....	74
Gambar 4.15	Hasil uji homogenitas senyawa bifentrin Pada kandidat bahan acuan.....	75

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Produksi teh global dan ekspor pada 2006 (dalam metrik ton dan sebagai persen keseluruhan).....	1
Tabel 1.2	Data keberadaan residu pestisida pada produk teh dunia.....	2
Tabel 1.3	Batas Maksimum Residu Pestisida pada Teh.....	3
Tabel 2.1	Perbandingan metrologi dalam bidang pengukuran fisika dengan kimia.....	8
Tabel 2.2	Aturan penggabungan komponen ketidakpastian untuk mendapatkan ketidakpastian gabungan.....	13
Tabel 2.3	Identitas, Sifat fisika dan kimia dari senyawa endosulfan.....	20
Tabel 2.4	Identitas, Sifat fisika dan kimia senyawa bifentrin.....	21
Tabel 4.1	Presisi Waktu Tambat (Rt) dan Area dari Senyawa $\alpha$ -Endosulfan dan Bifentrin.....	38
Tabel 4.2	Perolehan kembali (%) senyawa $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin setelah melalui kolom silika dan florisil.....	42
Tabel 4.3	Hasil perolehan kembali $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin.....	47
Tabel 4.4	Hasil perolehan kembali $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dengan larutan pengekstrak campuran aseton/n-heksan.....	49
Tabel 4.5	Sumber-sumber ketidakpastian.....	51
Tabel 4.6	Sumber data untuk estimasi ketidakpastian untuk penentuan $\alpha$ -endosulfan.....	51
Tabel 4.7	Sumber data untuk estimasi ketidakpastian untuk penentuan bifentrin.....	52
Tabel 4.8	Data ke -4 larutan kalibrasi.....	53
Tabel 4.9	Perhitungan ketidakpastian standar untuk komponen $C_x$ .....	54
Tabel 4.10	Ketidakpastian standar $C_{20}$ dari efek tipe B.....	55
Tabel 4.11	Ketidakpastian standar $C_{20}$ dari efek tipe A.....	55
Tabel 4.12	Ketidakpastian standar dari faktor pengenceran.....	56
Tabel 4.13	Ketidakpastian standar dari komponen massa sampel.....	57
Tabel 4.14	Ketidakpastian standar dari komponen perolehan kembali.....	59
Tabel 4.15	Ketidakpastian gabungan dari masing-masing komponen sumber ketidakpastian.....	61
Tabel 4.16	Hasil perolehan kembali $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dengan larutan pengekstrak campuran aseton/n-heksan.....	64
Tabel 4.17	Data kadar air sampel kandidat bahan acuan.....	67
Tabel 4.18	Hasil analisis kandidat bahan acuan teh yang dispiking.....	69
Tabel 4.19	Analisis kandidat bahan acuan setelah dihomogenisasi sebelum dimasukkan ke dalam botol.....	69
Tabel 4.20	Data uji homogenitas senyawa $\alpha$ -endosulfan.....	70
Tabel 4.21	Data uji homogenitas senyawa bifentrin.....	71
Tabel 4.22	Sumber-sumber ketidakpastian pada hasil analisis sampel uji homogenitas.....	72
Tabel 4.23	Ringkasan nilai ketidakpastian untuk senyawa $\alpha$ -endosulfan pada uji homogenitas.....	74
Tabel 4.24	Ringkasan nilai ketidakpastian untuk senyawa bifentrin pada uji homogenitas.....	75

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil Uji Profisiensi yang diselenggarakan oleh <i>Asia Pasific Metrology Program (APMP)</i> .....	81
Lampiran 2	Perhitungan ANOVA untuk Uji Homogenitas.....	86
Lampiran 3	Sertifikat Hasil Analisis Bahan Acuan $\alpha$ -Endosulfan.....	90
Lampiran 4	Sertifikat Kalibrasi Neraca Analitik Mettler Toledo AT 20.....	92
Lampiran 5	Sertifikat Kalibrasi Neraca Analitik Mettler Toledo AT 200.....	95



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Teh merupakan salah satu minuman yang paling populer di dunia dimana posisinya berada di urutan ke dua setelah air. Pada tahun 2006, total produksi teh di dunia mencapai 3,5 juta ton yang dihasilkan oleh lebih dari 35 negara di dunia dimana China, India, Srilanka dan Kenya merupakan negara-negara penghasil teh terbesar di dunia, sedangkan Indonesia merupakan negara penghasil teh terbesar keenam dunia seperti yang terlihat pada Tabel 1.1.

**Tabel 1.1 Produksi teh global dan ekspor pada 2006 (dalam metrik ton dan sebagai persen keseluruhan)**

Negara	Produksi	Share	Ekspor	Share
China	1,028,064	0.29	286,594	0.18
India	955,907	0.27	200,866	0.13
Sri Lanka	310,822	0.09	314,915	0.20
Kenya	310,607	0.09	313,721	0.20
Turkey	142,000	0.04	5,500	0.00
Indonesia	140,049	0.04	95,339	0.06
Vietnam	132,000	0.04	106,000	0.07
Japan	99,500	0.03	1,681	0.00
Argentina	80,000	0.02	70,723	0.04
Bangladesh	53,265	0.02	4,794	0.00
Malawi	45,010	0.01	41,962	0.03
Uganda	36,726	0.01	32,699	0.02
Tanzania	31,348	0.01	24,132	0.02
Iran	20,000	0.01	6,000	0.00
Taiwan	19,345	0.01	1,962	0.00
Other	128,157	0.04	64,920	0.04
<b>Total</b>	<b>3,532,800</b>		<b>1,571,808</b>	

[Sumber: Sanne Van Der Wal, Juni 2008]

Manfaat teh bagi kesehatan telah diakui secara luas di dunia. Namun demikian, disamping itu isu mengenai keberadaan residu pestisida dalam produk teh telah lama menjadi perhatian khusus hingga di tingkat internasional. Keberadaan residu pestisida di dalam suatu bahan yang dikonsumsi, terlebih apabila konsentrasinya berada di atas batas aman yang telah ditetapkan oleh

organisasi kesehatan dikhawatirkan akan memberikan dampak negatif bagi kesehatan konsumen. Dari hasil pengujian beberapa merek teh di dunia oleh Australia, ternyata masih banyak produk teh yang mengandung residu pestisida meskipun masih berada di bawah batas maksimum yang diperbolehkan, seperti tercantum dalam Tabel 1.2.

**Tabel 1.2 Data keberadaan residu pestisida pada produk teh dunia**

Merek Teh	Berasal dari	Manufaktur/Distributor	Residu Pestisida (ppm)
Billy Tea	Indonesia dan PNG	Tetley	Fenvalerat 0,03 dan bifentrin 0,01
Black and Gold	Australia dan negara lain	AAPW	Permetrin 0,06
Bushells	Dari berbagai negara terutama Indonesia	Unilever	Fenvalerat 0,01 dan dikofol 0,03
Farmland		Coles Myer	Bifentrin 0,01
Formosan	Taiwan	Formosann tea Australia	Sipermetrin 0,22; Fenvalerat 0,07; dikofol 0,01; endosulfan sulfat 0,01; Fosalon 0,02
Iga		AAPW	Bifentrin 0,01
Lan Choo	Dari berbagai negara terutama Indonesia	Unilever	Fenvalerat 0,05
Savings	Sri Lanka	Coles Myer	Etion 0,008

[Sumber: <http://www.maduratea.com.au/media/upload/f113321.pdf>]

Untuk meningkatkan mutu produk yang diperdagangkan serta untuk menetapkan nilai atau harga jual, maka telah banyak dibuat standar mutu ataupun peraturan-peraturan mengenai mutu produk teh yang layak jual baik di tingkat internasional maupun nasional. Batas Maksimum Residu (BMR) pestisida pada hasil pertanian umumnya, dan teh khususnya, telah ditetapkan oleh peraturan nasional berbagai negara seperti *United Kingdom*, Jerman, Belanda, Jepang, dan Indonesia sendiri, serta badan-badan regional, seperti US EPA (*Environmental Protection Agency*), EU (*European Union*), dan badan internasional, seperti CAC (*Codex Alimentarius Commission*). Nilai BMR pestisida pada teh ditentukan atas dasar kandungan residu pestisida pada teh jadi sebelum diseduh (Muraleedharan, 1994; Muraleedharan *et al.*, 2001; Anonim, 2003b). Nilai BMR untuk beberapa



jenis pestisida yang biasa diaplikasikan pada tanaman teh dapat dilihat pada Tabel 1.3.

**Tabel 1.3 Batas Maksimum Residu Pestisida pada Teh**

Pestisida	BMR (mg/Kg)						
	EU	UK	Belanda	Jerman	Jepang	Codex	Indonesia
Bifentrin	5,00	-	0,10	5,00	25,00	-	-
Endosulfan	30,00	30,00	30,00	30,00	-	30,00	30,00
Fenvalerat	0,05	-	0,10	0,05	1,00	-	-
Sipermetrin	0,50		0,10	0,50	20,00	20,00	20,00

[Sumber: Anonim, 2003b; Muraleedharan & Selvasundaram 2002; SKB Menkes dan Mentan NO. 881 711/1996;Dini Jamiya Rayati]

Dengan situasi tersebut di atas, tampak bahwa kemampuan analisis secara akurat, tertelusur disertai dengan data estimasi ketidakpastian hasil analisisnya menjadi mutlak dibutuhkan. Hal tersebut dimaksudkan untuk melindungi konsumen dari bahaya residu pestisida yang melebihi ambang batas aman pada teh yang hampir setiap hari dikonsumsi oleh penduduk dunia. Dari sudut pandang ekonomi, kemampuan tersebut diharapkan dapat mendukung kegiatan ekspor Indonesia yaitu dalam hal mencegah adanya (pencekalan/pelarangan) atas produk teh Indonesia (*Trade to Barrier*) akibat kesalahan analisis. Untuk memperoleh kemampuan tersebut maka penerapan konsep metrologi kimia menjadi penting diterapkan dalam melakukan pengujian kimia.

Dalam bidang kimia analitik, terdapat perkembangan baru mengenai pendekatan teknik pengujian yang dikenal sebagai metrologi kimia. Metrologi kimia merupakan ilmu pengukuran di bidang kimia yang telah berkembang pesat sejak sekitar 10 tahun yang lalu. Terdapat perbedaan pendekatan pada kimia analitik konvensional dibandingkan dengan metrologi. Pada kimia analitik konvensional, jaminan mutu pengujian difokuskan pada aspek akurasi, presisi, penggunaan metoda standar (*standard method*) dan penekanan pada proses analisis. Dalam hal ini, pendekatan mutu hasil analisis tidak sistematis dan keterkaitan dengan laboratorium lain terbatas. Sedangkan pada pendekatan metrologi kimia, jaminan mutu hasil pengujian ditekankan pada ketertelusuran (*traceability*) pada satuan internasional (SI), tersedianya data estimasi ketidakpastian hasil analisis (*uncertainty*), penggunaan metoda yang tertelusur (*traceable method*), penekanan terhadap standar dan kualitas metoda pengukuran, kemudian pendekatan mutu hasil analisis melalui sistem manajemen mutu

lengkap dengan jaminan mutu, pengendalian mutu dan asesmen mutu serta adanya keterkaitan dengan laboratorium lain dimana terdapat komparabilitas hasil dan harmonisasi antar laboratorium.

Ketertelusuran hasil uji merupakan salah satu syarat penting dalam metrologi kimia. Ketertelusuran dapat kepada Standar Internasional (SI), metoda standar atau kepada suatu *reference material* yang umumnya disebut sebagai bahan acuan. Bahan acuan merupakan suatu bahan yang mempunyai satu atau lebih sifat bahan yang homogen dan stabil untuk dapat digunakan dalam mengkalibrasi peralatan, menguji metoda analisis atau sebagai standar dalam pengukuran/analisis contoh (Eurachem Guide, 1998). Pembuatan bahan acuan memiliki tingkat kesulitan yang cukup tinggi karena harus memenuhi beberapa kriteria seperti homogen, stabil, penetapan nilai konsentrasi analit harus dilakukan dengan menggunakan metoda absolut (primer), serta tersertifikasi. Untuk itulah bahan acuan primer biasanya hanya diproduksi oleh lembaga metrologi yang telah berpengalaman seperti NIST (USA), BAM (Jerman), KRISS (Korea) dan IRMM (*European Commission*) ([http://en.wikipedia.org/wiki/Certified reference materials](http://en.wikipedia.org/wiki/Certified_reference_materials)). Di Indonesia sendiri pengembangan bahan acuan residu pestisida dalam produk pertanian baru dimulai oleh sejumlah instansi. Bahan acuan pestisida dalam teh pernah dibuat di Cina untuk keperluan uji profisiensi. Bahan acuan dibuat dari teh yang telah mengandung residu pestisida yang kemudian dihomogenkan dan ditetapkan nilai konsentrasi analit pestisidanya menggunakan metoda primer yaitu *Isotope Dillution Mass Spectrometry* (IDMS) yang disertai dengan nilai ketidakpastian hasil analisisnya. Untuk pembuatan bahan acuan pestisida dalam teh yang tidak mengandung analit pestisida, harus dilakukan penambahan analit terlebih dahulu yang memerlukan teknik yang tepat dan juga proses homogenisasi yang tepat sehingga didapatkan bahan acuan yang homogen. Cara penambahan (*spiking*) terutama dalam matriks padatan perlu dipelajari dan dikembangkan untuk mengantisipasi apabila perlu dibuat bahan acuan yang secara alami matriks yang tersedia di Indonesia tidak mengandung analit target yang diinginkan.

## 1.2 Perumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan atas dasar karena belum tersedianya bahan acuan residu pestisida dalam komoditas teh di dalam negeri, karena dalam pembuatannya mempunyai kesulitan yang cukup tinggi, yang meliputi:

1. Terjaminnya homogenitas kandidat bahan acuan, khususnya untuk sampel yang berupa padatan.
2. Terjaminnya kestabilan kandidat bahan acuan, serta
3. Penetapan nilai acuan yang tertelusur, lengkap dengan estimasi ketidakpastiannya.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk:

Mempelajari teknik spiking dan proses homogenisasi pada matriks padatan dalam rangka pengembangan bahan acuan pestisida  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dalam matriks teh serta proses validasi metoda analisisnya.

## 1.4 Hipotesis

Dengan menggunakan bahan teh lokal sebagai matrik dasar dapat dikembangkan bahan acuan yang mengandung representasi pestisida golongan organoklorin ( $\alpha$ -endosulfan) dan piretroid (bifentrin) sesuai kaidah metrologi kimia, khususnya yang memiliki latar pengganggu tipikal dalam produk teh lokal.

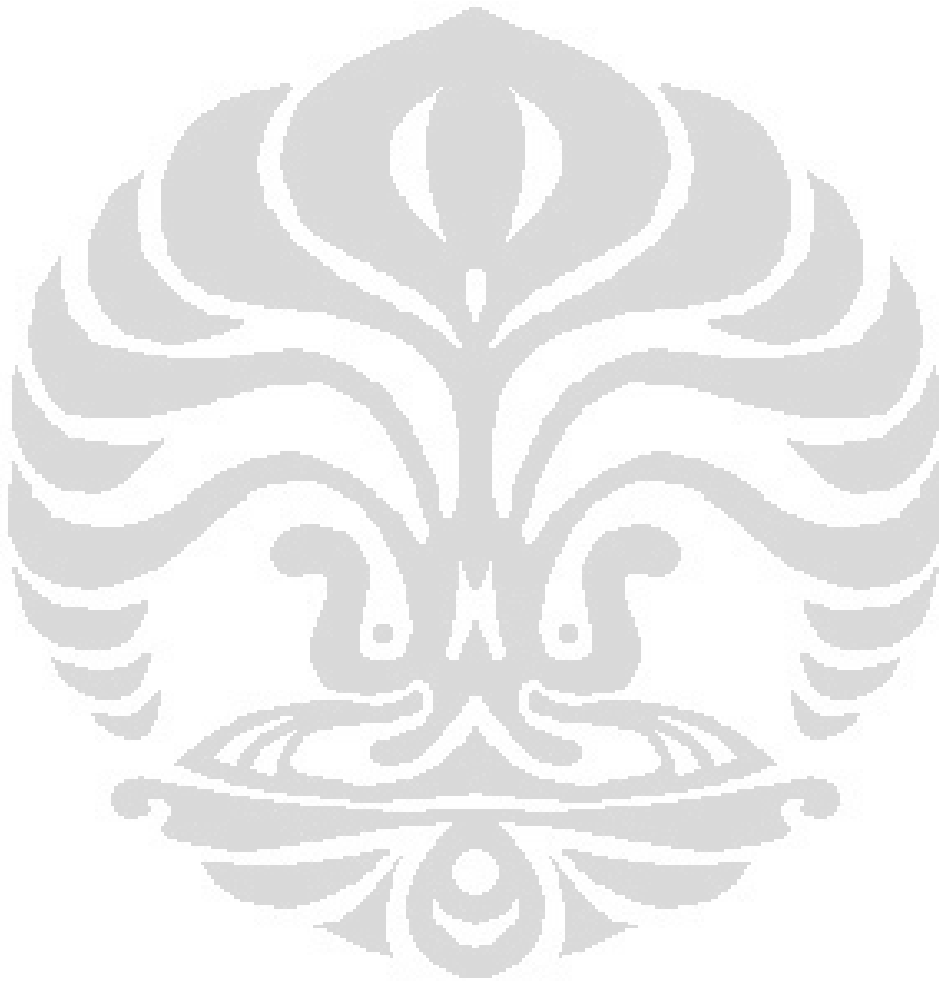
## 1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk pembuatan bahan acuan matriks yang berupa padatan dengan cara spiking. Untuk selanjutnya hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu meningkatkan mutu hasil pengujian residu pestisida dalam produk teh lokal. Dengan menggunakan metoda pengujian yang tervalidasi dan dilengkapi dengan tersedianya bahan acuan lokal, maka mutu pengujian dapat terjamin, khususnya dalam meminimalkan bias karena gangguan latar dari berbagai produk teh lokal. Pada akhirnya diharapkan dapat memberikan perlindungan terhadap konsumen dari bahaya residu pestisida dalam teh dan

meningkatkan daya saing produk ekspor serta dapat meminimalisir pencekalan atau *barrier to trade* akibat kesalahan hasil pengujian.

### **1.6 Ruang Lingkup Penelitian**

Pada penelitian ini akan dilakukan pengembangan bahan acuan residu pestisida golongan organoklorin ( $\alpha$ -endosulfan) dan piretroid (bifentrin) pada matriks teh hitam.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Metrologi Kimia

Metrologi berasal dari bahasa Yunani *metron* yang berarti mengukur dan *logos* yang berarti ilmu. *The International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (2008)* mendefinisikan metrologi sebagai ilmu pengukuran dan aplikasinya. Metrologi khususnya di bidang fisika telah dikenal sejak zaman purba dan terus mengalami perkembangan pada abad pertengahan, zaman revolusi industri, hingga di zaman modern ini. Pada tanggal 20 Mei 1875 telah disepakati suatu perjanjian untuk mendirikan organisasi dunia untuk metrologi yang dikenal sebagai *International Bureau of Weights and Measures (Bureau International des Poids et Mesures, BIPM)*. Perjanjian tersebut dikenal sebagai *Treaty of Meter* yang ditandatangani oleh 17 negara. Sejak saat itu, tanggal 20 Mei diperingati sebagai hari metrologi dunia. Metrologi memegang peranan yang sangat penting dalam berbagai aspek kehidupan mulai dari kegiatan perdagangan hingga pengambilan keputusan yang terkait dengan masalah keamanan, keselamatan, kesehatan dan kesejahteraan masyarakat yang diambil berdasarkan data hasil pengujian.

Metrologi kimia sendiri mulai berkembang sejak satu dekade lalu. Seiring dengan berkembangnya era globalisasi, kesadaran akan pentingnya kualitas hasil pengujian/pengukuran kimia yang akan mempengaruhi kualitas hidup masyarakat modern telah menjadi suatu isu penting. Pengujian kimia sangat penting dalam berbagai aspek kehidupan. Adapun contoh-contoh keputusan penting yang diambil berdasarkan hasil pengujian kimia adalah makanan yang aman yang tidak mengandung bahan berbahaya, barang-barang yang berkualitas yang dapat diperjual belikan, penanganan pasien berdasarkan hasil uji laboratoriumnya, hingga pengambilan keputusan pada tingkat legislasi yang terkait dengan bidang kesehatan, perdagangan, proses produksi hingga penanganan problem sosial. Metrologi kimia ini dikembangkan di tingkat internasional dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas hasil pengujian kimia

sehingga sekali dilakukan pengukuran, hasil tersebut dapat diterima dimanapun (Bulska E. & Taylor, 2003).

Prinsip utama dari metrologi adalah pengukuran yang handal, dimana hal tersebut tergantung dari tersedianya standar analit yang akan diukur, tertelusurnya hasil pengukuran ke Standar Internasional (SI) serta tersedianya data estimasi ketidakpastian hasil pengukuran. Secara fundamental terdapat perbedaan antara metrologi fisika dengan metrologi kimia. Perbedaan tersebut diperlihatkan pada Tabel 2.1 berikut:

**Tabel 2.1. Perbandingan metrologi dalam bidang pengukuran fisika dengan kimia**

	Fisika	Kimia
Pengukuran	Membandingkan kuantitas Contoh: Temperatur	Membandingkan kuantitas analit Contoh: DDT dalam susu
Unit	M, s, K	Mol/Kg, mg/Kg
Dipengaruhi oleh	Seringkali berkaitan dengan pengukuran langsung	Berbagai faktor mempengaruhi hasil
Dampak utama	Kalibrasi peralatan	Perlakuan kimia seperti ekstraksi, bahan acuan yang digunakan, dan kalibrasi instrumen analisa
Bergantung pada	Tidak tergantung pada sampel	Sangat tergantung pada sampel
Contoh	Panjang meja	Konsentrasi Pb di air laut, tanah, darah, dsb.

[Sumber: [www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf](http://www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf)]

Dalam beberapa tahun terakhir yaitu sekitar 10-15 tahun belakangan terus dilakukan penelitian global untuk membuktikan bahwa konsep metrologi kimia terutama *traceability* dapat diterapkan di bidang kimia analitik. Adapun usaha-usaha yang telah dilakukan oleh lembaga metrologi internasional seperti:

1. BIPM telah membentuk *Consultative Committee on the Quality of Material* (CCQM) untuk memperkuat hubungan antara pengujian kimia dengan satuan Internasional, mol.
2. EURACHEM dan CITAC mengembangkan panduan untuk perhitungan nilai ketidakpastian dalam analisis kimia berdasarkan prinsip metrologi dan *Guide Uncertainty of Measurement* (GUM) untuk menghitung ketidakpastian hasil pengujian.

3. ISO/IEC 17025:2005 untuk menggantikan ISO 25 sebagai standar panduan akreditasi laboratorium berdasarkan pendekatan metrologi ([www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf](http://www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf)).
4. Selain itu juga dilakukan studi uji banding regional dan internasional.

Implementasi metrologi pada pengukuran kimia, yang saat ini ditekankan pada ISO/IEC 17025:2005 tertuang dalam beberapa butir berikut ini:

1. Pemilihan prosedur pengujian yang benar-terkait dengan validasi metode
2. Mendeskripsikan secara benar prosedur pengujian (rumus perhitungan hasil).
3. Menyatakan hasil yang diperoleh tertelusur ke standar apa dan dapat menunjukkannya.
4. Melakukan evaluasi terhadap hasil ketidakpastian analisis.
5. Memilih CRMs atau *reference standard* yang cocok dan menggunakannya secara benar.

([www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf](http://www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf)).

### 2.1.1 Ketertelusuran

Sejak tahun 1990, dua organisasi dunia yaitu EURACHEM (*A focus For Analytical Chemistry in Europe*) dan CITAC (*Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry*) telah didirikan dengan tujuan untuk meningkatkan komparabilitas dan ketertelusuran pengukuran di dalam analisis kimia sehingga akan meningkatkan kehandalan hasil analisis yang dikeluarkan. *The International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology* (VIM) mendefinisikan ketertelusuran sebagai “sifat dari hasil pengukuran atau nilai dari standar acuan yang dapat dihubungkan ke suatu standar yang sesuai biasanya berupa standar nasional atau internasional melalui rantai perbandingan yang tidak terputus, yang masing-masing rantai mempunyai nilai ketidakpastiannya”.

Berdasarkan definisi tersebut karakteristik ketertelusuran dapat diuraikan menjadi tiga elemen yaitu:

1. Keterkaitan ke standar yang sesuai seperti:
  - Standar Internasional Satuan Ukuran / *International System of Unit* (SI).
  - Bahan Acuan Bersertifikat / *Certified Reference Material* (CRM).
  - Metode Acuan / *reference method*.
2. Rantai pembandingan yang tidak terputus.
3. Ketidakpastian Pengukuran.

Dalam pengukuran kimia, rantai pembandingan lebih rentan terputus karena:

1. Proses pengukurannya kompleks, melewati banyak tahapan seperti pelarutan sampel, pemisahan analit dengan destilasi, ekstraksi, kromatografi dsb.
2. Dalam kalibrasi instrumen pengukuran, potensial terjadi efek matriks dimana respon analit yang sama dapat berbeda apabila analit tersebut berada dalam matriks yang berbeda. Dengan demikian rantai ketertelusuran hasil pengukuran dengan instrumen tersebut ke standar kalibrasi menjadi terputus.

Ketertelusuran hasil analisis kimia dapat digambarkan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1.





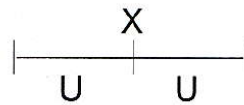
**Gambar 2.1. Bagan Ketertelusuran Hasil Analisis Kimia**

### 2.1.2 Estimasi Ketidakpastian

Kata ketidakpastian memiliki beberapa arti yaitu “ragu-ragu”, “kekurangpercayaan” dan “derajat ketidakyakinan”. Secara metrologis, ketidakpastian didefinisikan oleh *International Vocabulary of Basic and General terms in Metrology* (2008) sebagai “*non-negative parameter characterizing the dispersion of quantity values being attributed to a measurand, based on the information used*”. Dengan demikian ketidakpastian merupakan parameter non-negatif yang menggambarkan sebaran nilai kuantitatif suatu hasil pengujian (*measurand*), berdasarkan informasi yang digunakan. Ketidakpastian Pengukuran (U) merupakan suatu parameter yang berhubungan dengan hasil pengukuran yang menjelaskan rentang nilai benar yang didapat. Ketidakpastian pengukuran dan ketertelusuran merupakan hal yang sangat penting karena dengan kedua hal tersebut kita dapat:

1. Mengevaluasi reliabilitas/kehandalan dari hasil.
2. Dapat membandingkan hasil-hasil yang diperoleh.
3. Menentukan tingkat kepercayaan yang berhubungan dengan keputusan yang diambil berdasarkan hasil yang diperoleh.
4. Mengklaim bahwa hasil yang diperoleh sesuai dengan yang dimaksud.

Ilustrasi konsep ketidakpastian pengukuran sebagai suatu rentang dimana nilai benar berada diperlihatkan pada Gambar 2.2 berikut ini:



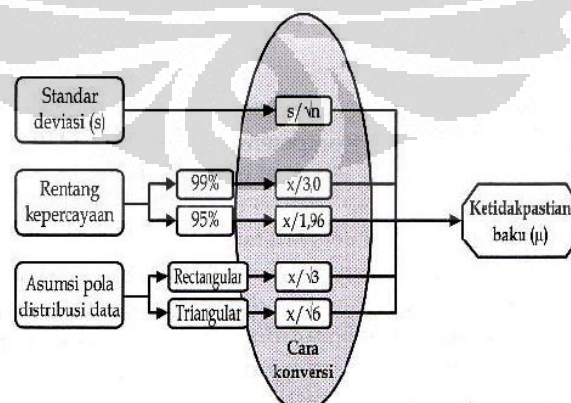
**Gambar 2.2 Ilustrasi konsep ketidakpastian yang digambarkan merupakan suatu rentang (U), dan mencakup nilai benar (X)**

Nilai ketidakpastian harus wajar (*reasonable*) dan didasarkan pada pengetahuan atas unjuk kerja metoda dengan menggunakan data-data yang diperoleh dari pengalaman sebelumnya serta data validasi metoda (ISO/IEC 17025, 2005). Berikut ini adalah tahapan yang dapat dilakukan untuk menghitung nilai ketidakpastian

(<http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/process.html>):

1. Menentukan apa yang akan diukur.
2. Mengidentifikasi sumber-sumber ketidakpastian.
3. Analisis sebab akibat.
4. Menghitung komponen ketidakpastian.
5. Mengubah data ketidakpastian menjadi ketidakpastian baku.

Berikut ini adalah bagan jenis-jenis sumber ketidakpastian dan cara konversinya untuk mendapatkan ketidakpastian baku. (Susanto, 2010).



**Gambar 2.3. Jenis-jenis data sumber ketidakpastian dan cara konversinya untuk mendapatkan ketidakpastian baku ( $\mu$ )**

6. Menghitung nilai ketidakpastian gabungan.

**Tabel 2.2. Aturan penggabungan komponen ketidakpastian untuk mendapatkan ketidakpastian gabungan.**

Aturan Penggabungan	Hubungan antara <i>measurands</i> dengan komponen ketidakpastian	Perhitungan ketidakpastian gabungan, $\mu_a$
Aturan 1	$a = b + c$ , atau $a = b - c$	$\mu_a = \sqrt{(\mu_b)^2 + (\mu_c)^2}$
Aturan 2	$a = b \cdot c$ atau $a = \frac{b}{c}$	$\mu_a = a \sqrt{\left(\frac{\mu_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{\mu_c}{c}\right)^2}$
Aturan 3	$y = Bx$ ; B adalah konstanta	$\mu_y = B\mu_x$
Aturan 4	$y = x^n$	$\frac{\mu(y)}{y} = n \frac{\mu(x)}{x}$

(Sumber: Susanto Y., 2010)

#### 7. Menghitung nilai ketidakpastian yang diperluas

Nilai ketidakpastian diperluas (U) dengan tingkat kepercayaan tertentu diperoleh dengan jalan mengalikan nilai ketidakpastian gabungan ( $u_c$ ) dengan faktor pencakupan (k). Umumnya digunakan nilai  $k=2$  yaitu pada tingkat kepercayaan 95%.

## 2.2 Bahan Acuan

Bahan acuan (*reference material*) oleh *International Vocabulary of Metrology-Basic and General Concept and Associated term* (2008) didefinisikan sebagai “*material, sufficiently homogeneous and stable with reference to specified properties, which has been established to be fit for its intended use in measurement or in examination of nominal properties.*” Dengan demikian bahan acuan dapat diartikan sebagai bahan atau zat yang memiliki sifat-sifat tertentu yang cukup homogen dan stabil, yang telah ditetapkan untuk dapat digunakan dalam pengukuran atau pengujian suatu contoh.

Bahan acuan digunakan untuk mendukung kegiatan pengujian terkait dengan komposisi kimia, biologis, klinis, fisik, sifat teknik dan bidang lain seperti pengujian rasa dan bau. Berikut ini adalah beberapa jenis bahan acuan ([www.european-accreditation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf](http://www.european-accreditation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf)):

1. Zat murni (*pure substance*). Dikarakterisasi untuk kemurnian bahan kimia dan pengotor dalam konsentrasi renik (*trace impurities*).
2. Larutan standar dan campuran gas. Disiapkan secara gravimetri dari zat-zat murni dan digunakan untuk tujuan kalibrasi.
3. Bahan acuan matriks. Dikarakterisasi untuk komposisi bahan utama atau pengotor dalam konsentrasi runtu dalam suatu matriks. Bahan acuan ini dibuat dari suatu matriks yang mengandung bahan target analisis atau dibuat dengan menyiapkan campuran sintetis.

Bahan acuan matriks (*matrix (or compositional) reference material*) didefinisikan sebagai “*A natural substance more representative of laboratory samples that has been chemically characterized for one or more elements, constituents, etc. With a known uncertainty*”. Bahan acuan dengan matriks merupakan tipe bahan acuan yang spesifik. Umumnya karakterisasi bahan acuan matriks dilakukan melalui uji banding antar laboratorium. Nilai bahan acuan ditetapkan didasarkan nilai konsensus yang diperoleh dari hasil uji banding antar laboratorium. Ketertelusuran nilai tersebut dapat ditunjukkan oleh laboratorium yang mengikuti uji banding antar laboratorium (*International Atomic Energy Agency, 2003*).

4. Bahan acuan fisika-kimia yang dikarakterisasi untuk pengukuran titik lebur, viskositas dan kerapatan optik.
5. *Reference objects* atau *artefact* dibuat untuk pengukuran sifat fungsional seperti rasa, bau, angka oktan, titik nyala dan kekerasan.

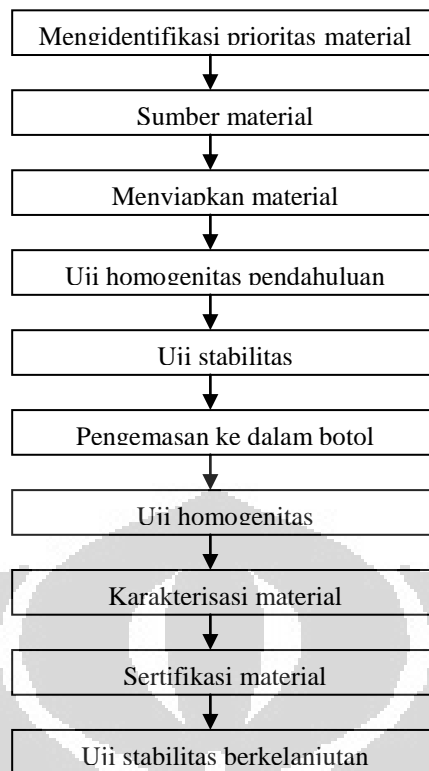
ISO mengklasifikasikan bahan acuan menjadi dua kelas yaitu bahan acuan tersertifikasi (*Certified Reference Materials-CRMs*) dan bahan acuan (*Reference materials-RMs*) atau sering juga disebut sebagai bahan acuan tak bersertifikat (*non-certified RM*). Bahan acuan tidak bersertifikat merupakan suatu bahan atau material yang telah teruji homogenitas dan stabilitasnya serta memiliki nilai acuan. Bahan acuan ini dapat digunakan untuk keperluan kalibrasi peralatan, assessment metoda pengukuran dan untuk menentukan nilai suatu bahan. Sedangkan untuk bahan acuan tersertifikasi terdapat tambahan memiliki nilai ketidakpastian dan ketertelusuran (nilai tersertifikasi). Bahan acuan tersertifikasi

merupakan bagian yang dapat digunakan untuk menghitung nilai ketidakpastian serta menunjukkan adanya ketertelusuran dalam analisis kimia (Philips, et.al, 2007 dan <http://www.european-accreditation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf>). Dari segi produksi, bahan acuan dibagi menjadi dua kategori yaitu bahan acuan standar (dengan kemurnian tinggi) dan bahan acuan matriks (mirip dengan contoh yang dianalisis di laboratorium). Bahan acuan standar biasanya diproduksi oleh produser-produser komersial seperti E-Merck, Sigma Aldrich, Cica-Kanto, dll. Sedangkan bahan acuan matriks umumnya diproduksi oleh Institut Metrologi Nasional (*National Metrology Institute-NMI*). Produksi serta penetapan nilai acuan bagi bahan acuan matriks cukup sulit dilakukan sehingga ketersediannya masih sangat terbatas padahal sangat dibutuhkan dalam berbagai pengujian kimia (Fitri D., 2010).

Bahan acuan memiliki peran penting dalam analisis kimia. Berikut ini adalah beberapa kegunaan bahan acuan dalam analisis kimia (*International Atomic Energy Agency, 2003*):

1. Untuk memfasilitasi pengujian yang akurat dari keseluruhan sistem pengujian selama pengembangan atau penerapan suatu metoda analitik.
2. Untuk menentukan apakah suatu metoda berada dalam suatu kontrol selama penggunaan rutin.
3. Untuk menetapkan ketertelusuran nilai acuan bagi sebuah in-house control material.
4. Sebagai sampel untuk uji banding antar laboratorium.

Panduan pembuatan bahan acuan telah ditetapkan oleh *The International Organisation for Standardisation (ISO)* dan *the International Electrotechnical Comission (IEC)* dalam ISO Guide 30,31, 33,34 dan 35. Proses penyiapan serta karakterisasi bahan acuan dijelaskan secara detil di dalam ISO Guide 30,34 dan 35. Adapun langkah-langkah yang harus dilakukan dalam pembuatan bahan acuan sesuai dengan ISO guide digambarkan pada bagan yang terlihat di dalam Gambar 2.4



**Gambar 2.4. Langkah-langkah utama dalam pembuatan bahan acuan**

Penetapan nilai bahan acuan dapat dilakukan dengan menggunakan metoda primer serta konsensus melalui hasil uji banding antar laboratorium. Penggunaan metoda primer dapat memberikan ketertelusuran secara metrologi kepada level unit yang lebih tinggi yaitu SI serta nilai ketidakpastian hasil analisis yang dihasilkannya menjadi lebih kecil. Definisi metoda primer menurut *The Consultative Committee for Amount of Substance (CCQM)* adalah “A primary method of measurement is a method having the highest metrological qualities, whose operation is completely described and understood, for which a complete uncertainty statement can be written down in terms of SI units. A primary direct method measures the value of the unknown without reference to a standard of the same quantity. A primary ratio method measures the value of a ratio of an unknown to a standard of the same quantity; its operation must be completely described by a measurement equation” (BIPM, 1998 dan Muksang K., 2009). Beberapa metoda analisis yang berpotensi digunakan sebagai metoda primer adalah gravimetri, titimetri, kolometri dan *isotope dilution mass spectrometry* (IDMS) (Richter W., 1997).

Produsen utama bahan acuan tersertifikasi di dunia merupakan instansi ternama baik di tingkat nasional maupun internasional seperti National Institute of Standard and Technology (NIST, USA), *The Institute of Reference Materials and Measurement* (IRMM, European Commission Joint Research Center, Belgium), *The federal Institute for Material Research and Testing* (BAM, Germany) serta *National Measurement Institute of Australia* (NMIA). Permintaan akan bahan acuan tersertifikasi di dunia semakin meningkat padahal yang tersedia masih sangat terbatas baik jumlah maupun jenisnya terutama untuk jenis bahan acuan matriks. Di Indonesia, bahan acuan yang dibutuhkan untuk keperluan analisis kimia terutama yang tersertifikasi masih harus diimport dari luar negeri karena hingga saat ini baru sedikit instansi yang mengembangkan pembuatan bahan acuan itupun dengan matriks yang masih sangat terbatas dan analit yang juga terbatas jenisnya. Adapun instansi di Indonesia yang telah memulai untuk mengembangkan bahan acuan adalah Pusat Penelitian Kimia-LIPI serta Pusat Sarana Pengendalian Dampak Lingkungan. Bahan acuan yang telah dikembangkan oleh kedua instansi tersebut adalah bahan acuan untuk parameter lingkungan anorganik pada analisis lingkungan dan bahan acuan untuk parameter proksimat dalam matriks pangan.

### **2.3 Teh Sebagai Matriks**

Teh merupakan salah satu komoditas yang memiliki peran yang strategis dalam perekonomian Indonesia. Teh yang dalam bahasa latin disebut sebagai *Camelia Sinensis [L.] Kuntze* sebenarnya bukan tanaman asli Indonesia. Tanaman teh pertama kali diperkenalkan di Indonesia pada tahun 1686 oleh Dr. Andreas Cleyer sebagai tanaman hias. Pada tahun 1728 pemerintah Hindia Belanda mendatangkan bibit-bibit teh dalam bentuk biji-bijian dalam jumlah yang besar karena tertarik untuk membudidayakannya di tanah Jawa, namun usaha tersebut tidak berhasil. Usaha budidaya dilakukan kembali dengan bibit dari Jepang yang dipromosikan oleh Dr. Van Siebold setelah tahun 1824. Usaha perkebunan teh yang pertama dipelopori oleh Jacobson pada tahun 1828.



**Gambar 2.5. Tanaman teh**

Pada umumnya berdasarkan ketinggian tempat tumbuhnya, tanaman teh di Indonesia adalah terdiri 50% dari jenis *medium grown*, 20% dari jenis *high grown tea* dan sisanya 30 % adalah jenis *low grown tea* yang merupakan hasil dari kualitas *medium grown* yang bermutu rendah. Terdapat 9 jenis kelompok teh yang didasarkan pada cara pengolahan atau tingkat oksidasinya yaitu teh putih, teh hijau, Oolong, teh hitam, Pu-erh, teh kuning, kukicha, genmaicha dan teh bunga. Teh hitam mengandung komponen/senyawa mudah menguap (volatil) sebanyak 404 macam dan dalam teh hijau ada sekitar 230 macam senyawa tersebut. Komponen volatil berperan dalam memberikan cita rasa yang khas pada teh. Teh juga mengandung pigmen seperti klorofil dan karotenoid. Pigmen ini yang menjadi salah satu masalah dalam menganalisis teh, karena zat warna tersebut dapat mengganggu pengukuran.

Penjualan komoditi teh Indonesia sangat bergantung pada ekspor. Perkembangan ekspor teh Indonesia mengalami penurunan rata-rata sebesar 2,1% per tahun. Hal ini disebabkan oleh lemahnya daya saing teh Indonesia di pasar dunia. Ekspor tertinggi teh Indonesia adalah teh hitam curah yaitu mencapai 85,5%. Selain teh hitam, Indonesia juga mengekspor teh hijau walaupun jumlah ekspornya masih sangat kecil yaitu hanya sekitar 8,4%. Melihat fakta tersebut, maka dalam penelitian ini teh hitam curah akan dipilih sebagai matriks dalam pembuatan bahan acuan.

#### **2.4 Pestisida Organoklorin dan Piretroid**

Saat ini produksi teh Indonesia mengalami penurunan disebabkan antara lain oleh produktivitas dan mutu teh yang rendah akibat organisme pengganggu tanaman (OPT) (hama, tungau dan nematoda). Pada perkebunan teh di Indonesia, dijumpai adanya 20 spesies patogen dan 50 gulma. Berbagai cara pengendalian telah dilakukan baik secara mekanis, kultur teknis, biologis, hingga pestisida



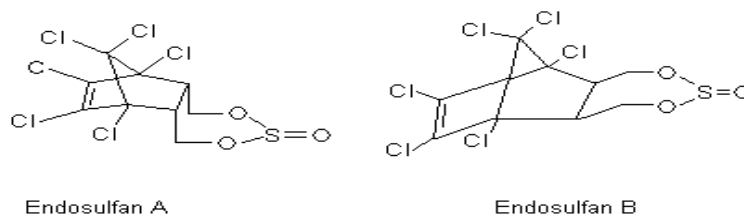
kimiawi. Penggunaan pestisida kimiawi di satu sisi memberikan kemudahan dan hasilnya cepat didapat, namun dapat menimbulkan efek samping yang membahayakan bagi manusia maupun lingkungan. Selain itu biaya yang dikeluarkan pun juga cukup besar, sebagai contoh salah satu perkebunan teh di Jawa barat dengan luas 12.000 Ha menghabiskan insektisida dan akarisisida sebanyak 32,5 ton per tahun fungisida, nematisida dan herbisida. Biaya yang dikeluarkan untuk aneka pestisida tersebut sebesar 20% dari total biaya produksi. Berdasarkan penelitian Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK) – Gambung terdapat lebih dari 30 OPT. Untuk meningkatkan daya saing penjualan teh di tingkat internasional, Indonesia harus mampu menganalisis senyawa pestisida target tersebut secara akurat dalam matriks teh.

([http://www.pn8.co.id/pn8/index.php?option=com\\_content&task=view&id=353&Itemid=2](http://www.pn8.co.id/pn8/index.php?option=com_content&task=view&id=353&Itemid=2)). Dalam penelitian ini dipilih sebagai analit target pestisida jenis organoklorin dan piretroid dengan pertimbangan bahwa kedua jenis pestisida tersebut biasa diaplikasikan dalam perkebunan teh dan merupakan jenis-jenis pestisida yang terdeteksi dalam produk teh (<http://www.etc-online.org/>).

#### 2.4.1 $\alpha$ -Endosulfan

Endosulfan merupakan pestisida jenis organoklorin. Endosulfan bertindak sebagai racun kontak terhadap berbagai serangga dan tungau tertentu pada sereal, kopi, kapas, buah, biji, kentang, teh, sayur dan tanamann lain. Endosulfan juga dapat digunakan sebagai pengawet kayu. Endosulfan dijual sebagai campuran dari alpha dan beta – endosulfan. Endosulfan berwarna krem hingga coklat dan baunya seperti terpentin. Endosulfan merupakan zat yang sangat beracun dimana organisasi kesehatan dunia (WHO) mengklasifikasikan endosulfan di kategori II (cukup berbahaya) sedangkan US Environmental Protection agency (US EPA) mengklasifikasikan sebagai kategori Ib (sangat berbahaya). Sifat toksisitas jangka pendeknya tinggi. Endosulfan mudah diserap oleh perut, paru-paru dan kulit, yang berarti bahaya endosulfan dapat masuk melalui semua rute paparan (<http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/endosulf.htm>). Struktur dari kedua isomer tersebut dapat dilihat pada gambar 2.6 dan beberapa sifat fisik dan kimia dari endosulfan dapat dilihat pada tabel 2.3.

( <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim576.htm#PartTitle:3>.  
PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES).



**Gambar 2.6 Struktur senyawa Endosulfan (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzo(e)dioxathiepin-3-oxide)**

**Tabel 2.3. Identitas, Sifat fisika dan kimia dari senyawa endosulfan**

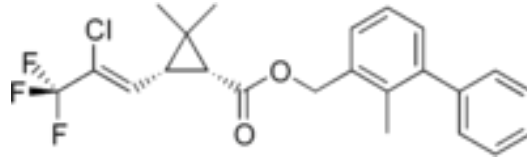
Nama struktur	6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzo(e)dioxathiepin-3-oxide
Rumus molekul	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S
Berat Molekul	406,9
Warna	Coklat
Bentuk	Padatan / kristal
Kelarutan dalam air	$\alpha$ -Endosulfan : 0,32 mg/L (22°C) B-Endosulfan : 0,33 mg/L (22°C)
kestabilan	Stabil terhadap sinar matahari, terhidrolisa dengan sangat lambat pada cairan asam dan basa membentuk diol dan sulfur dioksida
Titik leleh	Teknis: 70 – 100°C Murni: 106°C
Kerapatan	1,7
Tekanan uap	1,2 Pa pada 80°C
P <sub>ow</sub>	Log P <sub>ow</sub> : 3,55 – 3,62

Stimulasi sistem saraf tengah merupakan karakteristik utama dari keracunan endosulfan. Gejala paparan akut meliputi hiperaktif, tremor, respirasi menurun dan anemia serta hilang kemampuan untuk berdiri. Efek jangka panjang dari paparan endosulfan pada level konsentrasi rendah ini telah diteliti dari gejala yang muncul pada hewan percobaan yaitu adanya efek terhadap ginjal, hati, janin tak berkembang serta menurunnya kemampuan melawan infeksi.

#### 2.4.2 Bifentrin

Bifentrin merupakan insektisida sintesis golongan piretroid dan akarisisida yang mempengaruhi sistem saraf pusat dan paralisis pada serangga. Senyawa ini biasa diperdagangkan dengan nama dagang *Talstar*, bifentrin, *Brigade*, *Capture*,

FMC 54800, OMS3024, *Torant* (with *Clofentezine*) dan *Zipac* (with *Amitraz*). Struktur senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 2.7 dan sifat fisika kimia ditampilkan pada Tabel 2.4.



**Gambar 2.7. Struktur molekul bifentrin**

**Tabel 2.4. Identitas, Sifat fisika dan kimia senyawa bifentrin**

Nama struktur (IUPAC)	2-methylbiphenyl-3-ylmethyl (Z)3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
Rumus molekul	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$
Massa molekul relatif	423,0
CAS no.	82567-04-3
Tekanan uap	$2,4 \times 10^{-5}$ Pa pada $25^{\circ}C$
Titik leleh, titik didih dan temperatur dekomposisi	Titik leleh: $65-70^{\circ}C$ Bifentrin menguap pada rentang temperatur $215-225^{\circ}C$
Kelarutan dalam air	Kurang dari $0,1 \mu g/L$ pada $pH=2,7$ (kira-kira 14 ppt)
$P_{OW}$	$\log P_{OW} > 6$ (kelarutannya sangat kecil di air)
Karakteristik hidrolisis	Tidak terdeteksi adanya hidrolisis setelah diamati 22 hari pada $pH=5,7$ dan 9.

US. EPA mengklasifikasikan bifentrin sebagai kategori II (*moderate toxic*).

Bifentrin merupakan jenis pestisida yang penggunaannya dibatasi. Hal ini berlaku untuk penjualan eceran dan digunakan hanya untuk pengguna yang bersertifikat atau orang-orang yang berada di bawah pengawasan langsung mereka. Di AS, bifentrin dapat digunakan pada tanaman hias rumah kaca dan kapas.

Bifentrin sangat toksik bagi ikan dan organisme di perairan dan bersifat toksik sedang bagi mamalia. Paparan dosis tinggi dapat mengakibatkan inkoordinasi, tremor, muntah dan diare. Paparan dalam jangka waktu lama (kronis) memberikan efek pada reproduksi, teratogen, mutagenik, karsinogen, organ tubuh.

## 2.5 Riset Pengembangan Metoda Analisis dan Pembuatan Bahan Acuan Pestisida dalam Teh yang Pernah Dilakukan

Metoda analisis penentuan residu pestisida dalam teh terus berkembang. Berbagai teknik ekstraksi, komposisi pelarut yang digunakan untuk mengekstrak dan teknik pemurnian terus dikembangkan. Penentuan multiresidu untuk 17 jenis senyawa organoklorin dan piretroid menggunakan GC-MS (*Negative Chemical Ionization*) telah dilakukan di Cina. Pada penelitian tersebut residu pestisida diekstraksi dari matriks teh menggunakan campuran pelarut n-heksan:aseton (1:1) dan pemurnian menggunakan kolom florisil dan kolom alumina netral (Lin Zhu-Guang et. al., 2005). Metoda ekstraksi untuk penentuan 118 jenis senyawa pestisida dalam teh Cina juga pernah dikembangkan menggunakan campuran pelarut etil asetat:n-heksan dan pemurnian menggunakan *Gel Permeation Chromatography* (GPC) dan *Solid Phase Extraction* (SPE) (Xin Y. et. al., 2009).

Beberapa penelitian mengenai pengembangan serta pembuatan bahan acuan baik standar maupun matriks telah banyak dilakukan terutama oleh Lembaga Metrologi Nasional di berbagai negara maju disamping perusahaan-perusahaan penyedia bahan acuan. Namun demikian, karena banyaknya kemungkinan matriks yang digunakan serta beragamnya analit target, penelitian mengenai pengembangan bahan acuan matriks ini masih dapat dikembangkan secara luas. Di Indonesia, pengembangan bahan acuan matriks untuk analit target senyawa organik dalam konsentrasi runtu terutama pestisida belum dilakukan. Biasanya institusi di suatu negara akan mengembangkan suatu bahan acuan matriks yang sesuai dengan kebutuhan di negaranya, atau yang sesuai dengan standar nasional dan internasional yang ada sehingga dapat dipergunakan untuk kepentingan negara tersebut.

Bahan acuan matriks untuk pestisida  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pernah diproduksi oleh *National Institute of Metrology People Republic of China* (NIM China) pada tahun 2009 (Tang H., 2009). Bahan acuan tersebut digunakan untuk keperluan uji profisiensi yang diselenggarakan oleh *Asia pasific Metrology Program* (APMP) pada akhir tahun 2009. Matriks yang digunakan oleh NIM China adalah jenis teh oolong yang merupakan teh semi-fermetasi. Pemilihan teh jenis oolong didasarkan bahwa teh oolong mengandung pigmen dan senyawa

polifenol yang relatif banyak sehingga memberikan tantangan dalam menganalisis senyawa pestisida dalam matriks tersebut.

Pada pembuatan bahan acuan tersebut, teh oolong sebanyak 20 Kg yang berasal dari *batch* yang sama yang mengandung residu pestisida  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin, diperoleh dari perusahaan teh setelah sebelumnya dilakukan investigasi terhadap beberapa *batch* sampel teh. Uji homogenitas pendahuluan dilakukan dengan mengambil 10 porsi teh untuk dianalisis kadar residu  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin nya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai RSD (%) kurang dari 10 %. Tahapan selanjutnya adalah melakukan *grinding* terhadap sampel teh oolong untuk mengecilkan ukuran partikel. Setelah itu kemudian serbuk yang diperoleh diayak dengan saringan ukuran 245  $\mu\text{m}$  mesh untuk memperoleh ukuran partikel yang lebih homogen / seragam. Tahapan selanjutnya yaitu proses homogenisasi dengan pengadukan menggunakan drum polietilen *lined mixing* selama 4 jam. Serbuk teh yang telah homogen kemudian dikemas dalam botol kaca gelap bertutup dimana masing-masing botol kaca tersebut berisikan 20 g kandidat bahan acuan. Botol tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kantong aluminium foil yang divakum untuk melindungi dari pengaruh cahaya dan udara. Kadar air dari kandidat bahan acuan dianalisis dari 10 botol yang diambil secara acak dan diperoleh nilai RSD % dari kadar air kurang dari 3 %. Uji homogenitas dilakukan dengan menganalisis sampel dari 15 botol yang diambil secara acak, dimana masing-masing sampel dianalisis sebanyak duplo menggunakan teknik *Isotope Dillution Mass Spectrometry* (IDMS) dan diperoleh nilai %RSD untuk hasil analisis senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing sebesar 2,53 % dan 2,24 %. Uji stabilitas jangka pendek telah dilakukan oleh NIM China untuk melihat kestabilan senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin untuk penyimpanan selama 40 hari pada temperatur 40°C. Hasil analisis yang dilakukan pada hari ke 2, 4, 10, 20 dan 40 menunjukkan bahwa tidak terjadi tren degradasi yang teramati untuk kedua senyawa target tersebut pada kondisi penyimpanan seperti tersebut di atas.

Beberapa penelitian lain mengenai pembuatan bahan acuan yang dijadikan rujukan dalam penelitian ini adalah :

1. Pengembangan bahan acuan untuk pestisida organoklorin pada matriks herbal (C.W. Yiu, et.al., 2008).  
Pada penelitian ini dikembangkan suatu bahan acuan yang mengandung 4 residu pestisida organoklorin dalam matriks akar ginseng. Metoda analisis yang digunakan adalah metoda standar ID-GCMS dan bahan acuan yang diperoleh kemudian digunakan untuk sampel pada uji banding antar laboratorium yang diikuti oleh 70 peserta.
2. Kandidat bahan acuan dengan suatu matriks natural (tomat) yang mengandung residu pestisida [A. Paul and M.Roderick, 2001].  
Penelitian yang dilakukan oleh the Australian Nasional Analytical Reference Laboratory (NARL) adalah mengembangkan bahan acuan matriks tomat yang dispike dengan pestisida pada rentang konsentrasi yang relevan dengan rentang konsentrasi yang terdapat pada industri hortikultura di Australia.
3. Pengembangan metoda acuan dan bahan acuan untuk residu antibiotik di dalam makanan menggunakan teknik IDMS [K. Muksang, 2009].  
Literatur ini merupakan tesis yang dikerjakan di NMI Australia yang sangat kompeten dalam analisis dan pembuatan bahan acuan untuk senyawa organik dalam konsentrasi yang runut. Langkah-langkah dan metoda penelitian yang dilakukan dalam disertasi ini dapat dijadikan panduan dalam melakukan penelitian ini, meskipun analit target serta matriksnya sangat berbeda.

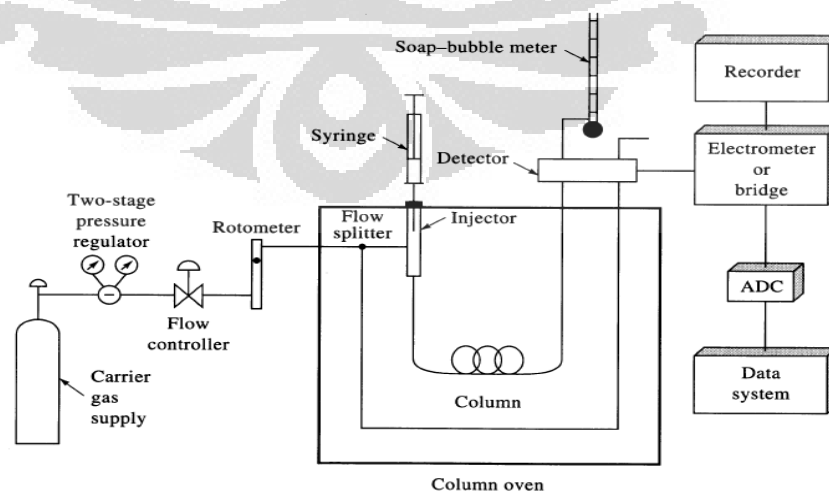
*Asia pasific Metrology Program (APMP)* pernah mengadakan uji banding tingkat Asia Pasifik untuk pengujian kadar pestisida organoklorin serta piretroid dalam matriks teh hijau dan teh oolong. Hasil uji banding tersebut masih sangat bervariasi sehingga belum bisa dikatakan berhasil dan kemungkinan akan diulang. Hal tersebut kami jadikan suatu tantangan untuk dapat menganalisis residu pestisida dalam matriks teh secara akurat dan hasilnya dapat diperbandingkan dengan laboratorium lain dan dapat diterima secara internasional. Pertimbangan lain untuk melakukan penelitian ini yaitu adanya permintaan akan bahan acuan

pestisida dalam matriks teh oleh Lembaga Penelitian teh dan Kina-Gambung, Bandung, yang merupakan lembaga riset teh terbesar di nusantara.

## 2.6 GC-ECD

Pada kegiatan penelitian ini digunakan instrumen analitik kromatografi gas dengan detektor penangkap elektron (*Gas Chromatography – Electrone Capture Detector*) untuk analisa kualitatif dan kuantitatif senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dalam ekstrak teh. Kromatografi adalah metoda pemisahan dimana komponen-komponen (dalam fasa gas) yang akan dipisahkan didistribusikan antara dua fasa, salah satunya merupakan lapisan stasioner (fasa diam) dengan permukaan yang luas dan fasa lain berupa zat alir (fluid) yang mengalir lambat sepanjang lapisan stasioner. Fasa diam dapat berupa zat padat atau cairan dan fasa geraknya adalah gas. Pada kromatografi gas, fasa geraknya berupa gas yang inert sedangkan fasa diamnya dapat berupa padatan yang dikenal sebagai GSC (*Gas Solid Chromatography*) atau dapat juga berupa cairan yang sukar menguap yang dikenal sebagai GLC (*Gas Liquid Chromatography*). (Day R.A. dan Underwood,A.L.,1996).

Sistem kromatografi gas terdiri dari gas pembawa, *injector*/tempat masuknya sampel, kolom kromatografi yang berada di dalam oven/termostat, detektor dan rekorder atau komputer. (Skoog,D.A., 1997).



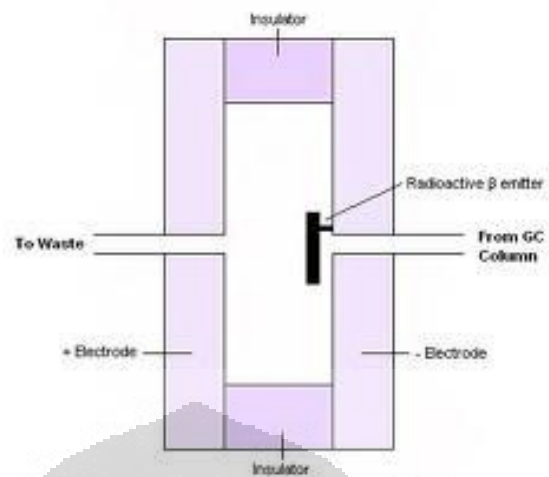
**Gambar 2.8 Bagan Kromatografi Gas**

Cuplikan yang dapat dipisahkan dengan teknik kromatografi gas harus bersifat volatil atau semivolatil yang dapat dipanaskan dan diuapkan menjadi bentuk gasnya. Cuplikan diinjeksikan ke dalam sistem GC melalui *injector* dan kemudian oleh gas pembawa dialirkan ke sepanjang kolom kromatografi. Adanya perbedaan partisi pada fasa diam memungkinkan komponen-komponen dalam cuplikan memisah satu sama lain atau terpisah dalam fungsi waktu. Setelah melalui kolom, komponen-komponen dalam cuplikan akan melewati detektor. Komponen dan detektor akan berinteraksi dan menghasilkan sinyal. Besarnya sinyal yang terbentuk tergantung dari jumlah komponen yang terdapat dalam cuplikan. Sinyal yang terbentuk kemudian dicatat dalam suatu recorder dan dapat dilihat sebagai suatu kromatogram.

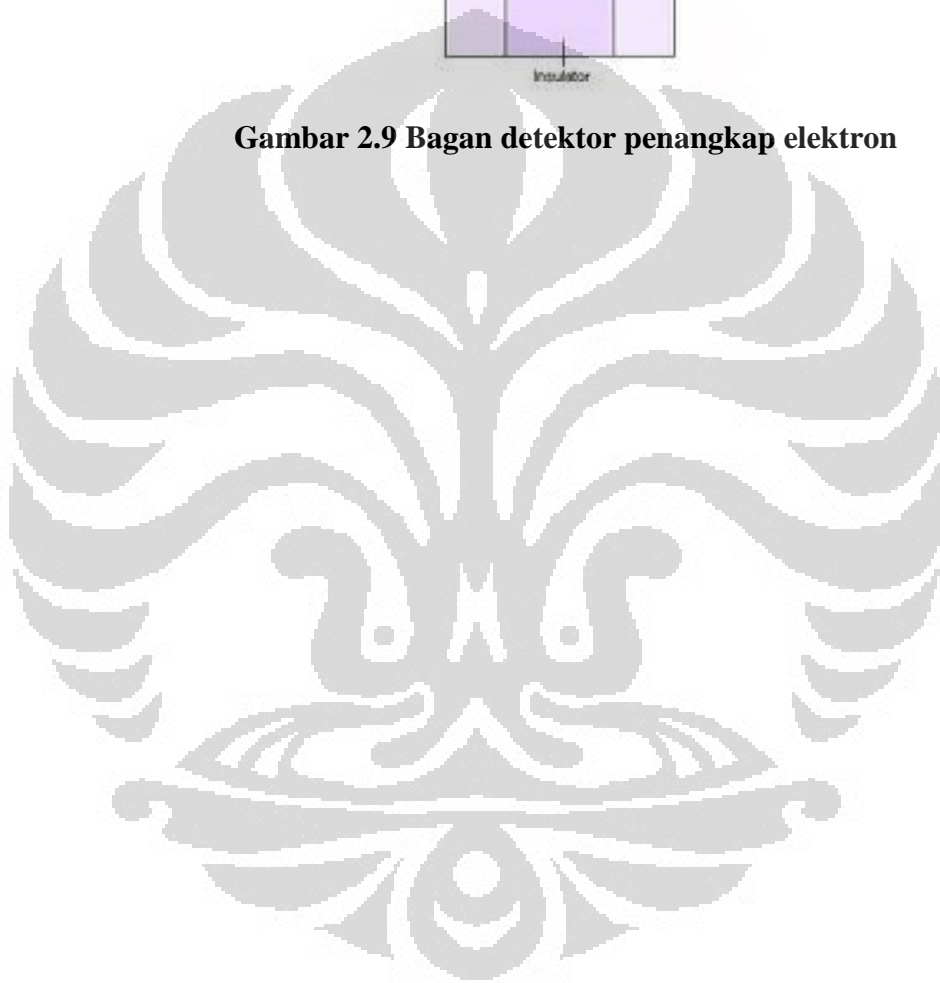
(<http://www.cce.vt.edu/ewr/environmental/teach/smprimer/gc/gc.html>).

Detektor Penangkap Elektron (ECD) merupakan salah satu detektor yang banyak digunakan untuk menganalisis sampel lingkungan, karena detektor ini selektif mendeteksi senyawa yang mengandung halogen, seperti pestisida dan *polychlorinated biphenyls* (PCB). Pada detektor ECD terdapat sumber radioaktif umumnya yaitu nickel-63 yang mengemisikan sinar  $\beta$  bersama dengan penggunaan make up gas. Gas nitrogen biasa digunakan sebagai make up gas karena energi eksitasinya yang rendah sehingga akan mudah untuk menghilangkan elektron dari molekul gas nitrogen. Elektron yang dipancarkan dari emitor elektron bertumbukan dengan molekul gas make up sehingga menghasilkan elektron bebas lebih banyak. Elektron dipercepat menuju anoda bermuatan positif yang kemudian akan menghasilkan arus. Karena itu selalu ada sinyal background pada kromatogram yang dihasilkannya. Sampel akan dibawa ke detektor oleh gas pembawa, molekul yang memiliki atom halogen yang bersifat elektronegatif akan menyerap elektron, dengan demikian akan terjadi pengurangan arus antara anoda dan katoda. Konsentrasi analit akan sebanding dengan tingkat penangkapan elektron. Detektor ECD sangat sensitif terhadap grup fungsional elektronegatif seperti halogen, peroksida, quinon dan nitro. (Skoog, D.A., 1998).





**Gambar 2.9** Bagan detektor penangkap elektron



## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik dan Standar, Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Puspiptek, Serpong, pada bulan Januari 2011 – Desember 2011

#### 3.2 Bahan dan Alat

##### 3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang dipergunakan adalah:

- (a) Standar murni bersertifikat senyawa pestisida  $\alpha$ -Endosulfan (kemurnian: min 99%) yang dibeli dari NMI Australia dan bifentrin (kemurnian: 99,1%) yang dibeli dari Chemservice.
- (b) Sampel teh yang diperoleh dari pasar.
- (c) Pelarut organik untuk pembuatan larutan standar dan ekstraksi: n-heksan (Merck, *grade EMSURE for analysis*, kemurnian 99%), aseton (Merck, Suprasolve) dan dietil eter (Merck, p.a.) .
- (d) Zat pengering: Natrium sulfat anhidrous (Merck).
- (e) Adsorben untuk tahap pemurnian: Florisil (Merck, 0,150 – 0,250 mm).
- (f) Gas Nitrogen dengan grade *High Purity* (Air Liquide) untuk pemekatan dan make up pada GC-ECD, serta gas Helium dengan grade *Alphagaz* (Air Liquide) sebagai gas pembawa di GC-ECD.

##### 3.2.2 Peralatan

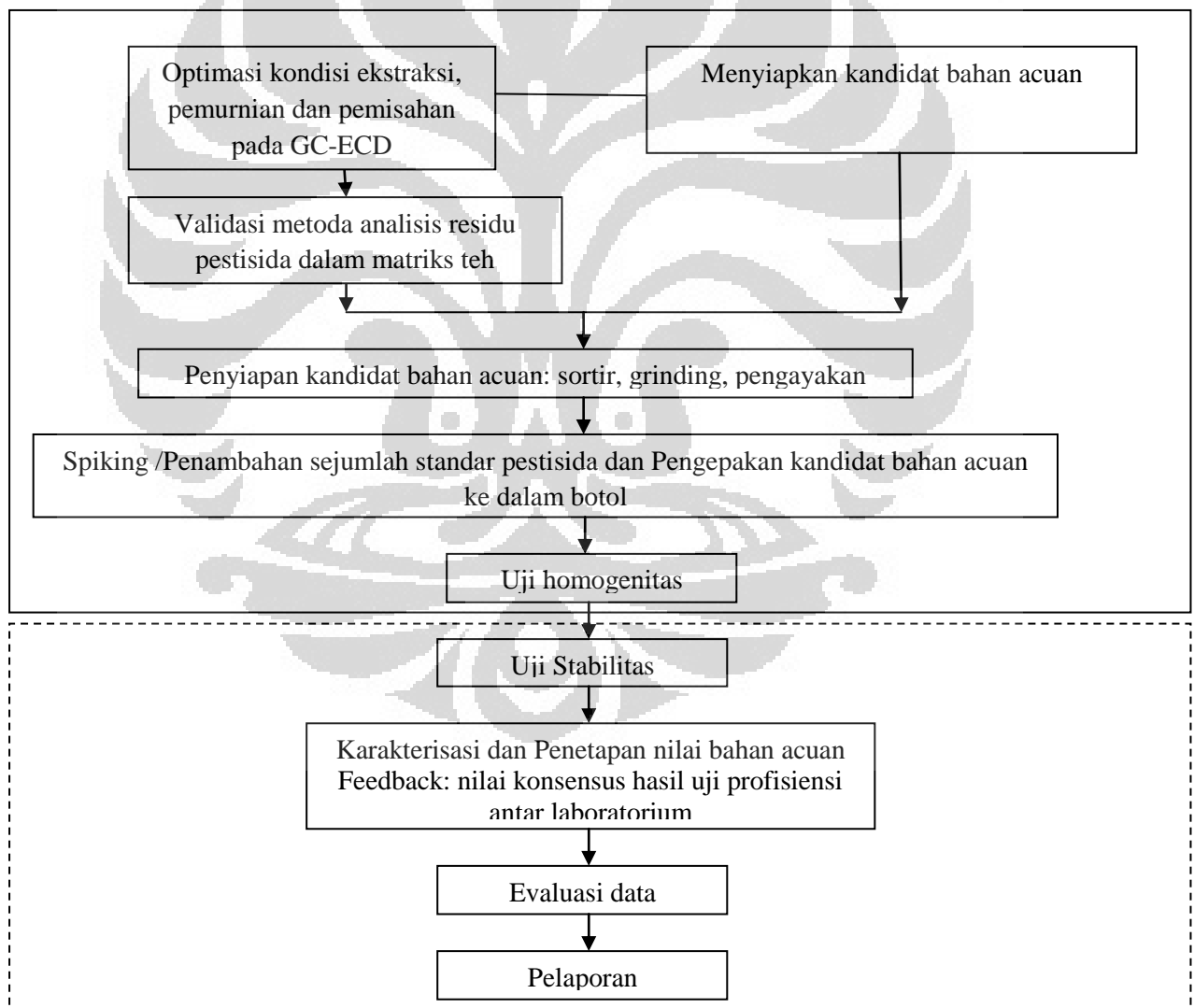
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: erlenmeyer bertutup asah, tabung gelas sentrifuga, labu evaporasi, kolom kromatografi, pipet, vial, botol kaca gelap bertutup ulir, wadah plastik, blender stainless steel, siever, oven, *shaker*, *rotary evaporator*, timbangan analitik Mettler Toledo AT 20 ( $\pm 0,00003$  g) dan AT 200 ( $\pm 0,0002$  g), mikropipet, *syringe* (ukuran 10  $\mu$ L), GC-ECD HP 6890, kolom kapiler DB-5 (30m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m).

### 3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini secara lengkap dilakukan melalui lima tahap pengerjaan yang terdiri dari:

- (1) Optimasi dan Validasi metoda analisis residu pestisida dalam matriks teh.
- (2) Penyiapan kandidat bahan acuan.
- (3) Uji homogenitas.
- (4) Uji Stabilitas.
- (5) Karakterisasi dan penetapan nilai acuan serta kegiatan uji banding antar laboratorium.

Secara garis besar, tahapan-tahapan penelitian dapat dilihat pada skema kerja berikut:



**Gambar 3.1 Skema Kerja**

Kegiatan penelitian ini difokuskan pada penyiapan kandidat bahan acuan, pemilihan teknik spiking hingga tahap uji homogenitas. Adapun tahap uji stabilitas, penetapan nilai bahan acuan serta uji banding antarlaboratorium untuk memperoleh *feedback* dari hasil penetapan nilai acuan akan dilakukan pada kegiatan penelitian lanjutan.

### **3.3.1 Optimasi dan Validasi metoda analisis residu pestisida dalam matriks teh**

#### **3.3.1.1 Optimasi kondisi pemisahan pada GC-ECD, ekstraksi dan pemurnian**

Analisa kualitatif serta kuantitatif residu pestisida dilakukan dengan menggunakan instrumen analisa GC-ECD HP 6890. Untuk pemisahan senyawa target digunakan kolom kapiler DB-5 dengan dimensi kolom 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m. Untuk mengetahui kinerja dari instrumen yang digunakan, dilakukan optimasi kondisi pemisahan serta verifikasi instrumen seperti uji presisi waktu tambat dan area dan uji respon detektor untuk melihat rentang linearitas pada berbagai tingkat konsentrasi. Optimasi kondisi pemisahan senyawa target pada kolom DB-5 dilakukan dengan mengatur program temperatur oven pada sistem GC, sehingga diperoleh resolusi yang baik dimana kedua senyawa target dapat terpisah sempurna dan dapat dibedakan secara jelas dari *background* atau *interference* yang terdapat pada hasil ekstrak. Uji presisi waktu tambat dan area dilakukan dengan menganalisis larutan standar secara berulang yaitu tujuh kali ulangan kemudian akan diperoleh nilai % RSD yang diharapkan nilai yang diperoleh adalah lebih kecil dari 10%. Uji respon detektor dilakukan dengan menganalisis beberapa larutan standar senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada beberapa tingkat konsentrasi. Respon detektor dapat dievaluasi dari linieritas yang diperoleh serta dapat diketahui sejauh mana rentang linieritas dihasilkan oleh detektor yang digunakan.

Residu pestisida  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin yang terdapat pada matriks teh dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut organik. Adapun metoda ekstraksi yang digunakan adalah Metoda Analisis Multiresidu Pestisida Piretroid pada Matriks tak Berlemak (Bumbu dan Rempah) yang diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, Direktorat Perlindungan Tanaman.

(Departemen Pertanian, 2006). Metoda tersebut sedikit dimodifikasi pada bagian pemurnian untuk disesuaikan dengan matriks teh. Pada tahap ekstraksi, ke dalam 2 g sampel teh ( $W_s$ ) ditambahkan 60 mL campuran aseton dan heksan (20/40, v/v) kemudian dimaserasi/didiamkan semalaman pada temperatur ruang. Setelah itu kemudian disentrifuga untuk memisahkan hasil ekstrak dengan ampas teh. Hasil ekstrak kemudian dievaporasi pada temperatur  $40^\circ\text{C}$  hingga hampir kering. Residu kemudian dilarutkan kembali secara kuantitatif dengan 10 mL n-heksan kemudian ditimbang beratnya ( $W_1$ ).

Tahap selanjutnya adalah tahap pemurnian dimana 3 mL aliquot ditimbang beratnya ( $W_2$ ) dan dilewatkan ke dalam kolom yang berisi 10 g florisil yang telah diaktivasi dengan pemanasan pada temperatur  $130^\circ\text{C}$  selama 18 jam. Di bagian atas fasa florisil diberi natrium sulfat anhidrous untuk menjebak air/uap air untuk menghindari deaktivasi florisil. Setelah itu kemudian dielusi dengan 100 mL campuran n-heksan dan dietil eter (85/15, v/v) lalu eluat ditampung dan kemudian dipekatkan hingga hampir kering dengan menggunakan rotary evaporator. Residu kemudian dilarutkan kembali secara kuantitatif dengan 1 mL n-heksan lalu ditimbang beratnya ( $W_3$ ). Kemudian hasil ekstrak diencerkan sebanyak 10 kali dengan melarutkan 100  $\mu\text{L}$  sampel ( $W_4$ ) ke dalam 900  $\mu\text{L}$  n-heksan (total berat larutan:  $W_5$ ). Setelah itu kemudian 1  $\mu\text{L}$  hasil ekstrak disuntikkan ke GC-ECD untuk dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Area puncak senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin yang diperoleh kemudian diplotkan ke larutan standar.

Kadar residu  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin kemudian dihitung menggunakan persamaan berikut ini:

$$X = \frac{C_x \cdot W_3}{W_s} \times fp \times \frac{1}{1-M} \times \frac{1}{Re c} \dots\dots\dots (3.1)$$

Dimana:

X : Konsentrasi analit ( $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin), dalam kondisi kering.

$W_s$  : Berat sampel teh.

$W_3$  : Berat larutan setelah tahap pemurnian.

- $C_x$  : Konsentrasi analit ( $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin) pada larutan yang diukur dengan GC-ECD.
- $f_p$  : Faktor pengenceran  $((W_1/W_2) \times (W_5/W_4))$
- Rec : Faktor Recovery
- M : Kadar air

### 3.3.1.2 Validasi metoda

Validasi berdasarkan ISO 17025:2005 pada butir 5.4.5 didefinisikan sebagai kegiatan konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti-bukti yang obyektif untuk menunjukkan bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus telah dipenuhi. Kesesuaian untuk suatu tujuan tertentu di sini oleh IUPAC 'Orange' Book dimaknai sebagai suatu tingkatan dimana data yang dihasilkan melalui suatu proses pengukuran memungkinkan pengguna untuk membuat keputusan yang benar baik secara teknis maupun administratif untuk suatu tujuan yang telah ditetapkan. Validasi metoda perlu dilakukan untuk metoda analisis yang baru dikembangkan, metoda analisis yang mengalami beberapa modifikasi dan bila ruang lingkup dari suatu metoda diperluas. Untuk mengetahui kinerja dari suatu metoda analitik, dilakukan pengujian terhadap parameter-parameter yang merupakan karakteristik kinerja kunci, yaitu konfirmasi identitas, selektivitas, limit deteksi, limit kuantifikasi, rentang kerja dan rentang linier, sensitivitas, akurasi, presisi, perolehan kembali, ketahanan metoda, ketidakpastian pengukuran dan ketertelusuran.

Untuk menguji konfirmasi identitas dan selektivitas, dilakukan analisis sampel yang mengandung analit target dan juga pengganggu yang mungkin ada dalam sampel menggunakan metoda yang akan divalidasi. Hasil yang diperoleh kemudian dievaluasi apakah dengan adanya senyawa pengganggu dari matriks sampel, akan mengurangi atau menambah deteksi dan kuantifikasi dari analit target yang diukur.

Berdasarkan NATA Technical Note 17 (2006), Limit deteksi dari suatu metoda adalah jumlah atau konsentrasi terkecil dari suatu analit di dalam sampel yang dapat dibedakan dari nol secara reliabel pada suatu tingkat kepercayaan yang ditetapkan. Untuk menentukan nilai limit deteksi, beberapa blanko sampel

dispike dengan larutan standar pada beberapa level konsentrasi rendah, kemudian dianalisis. Nilai limit deteksi ditetapkan untuk level konsentrasi spiking yang menghasilkan puncak senyawa target  $3S/N$ .

Rentang linier dari suatu metoda merupakan suatu rentang nilai dimana respon analit yang diukur menggunakan suatu metoda memberikan hasil uji yang proporsional terhadap konsentrasi analit. Rentang linier dari suatu metoda dapat diketahui dengan menganalisis blanko sampel dan juga beberapa blanko sampel yang ditambahkan dengan sejumlah standar analit target pada level konsentrasi yang berbeda. Dari data hasil pengukuran yang diperoleh kemudian dibuat grafik respon vs konsentrasi sehingga membentuk suatu kurva. Dari kurva tersebut akan diketahui pada rentang konsentrasi berapa kurva memberikan garis regresi yang linier, dengan demikian diharapkan kita dapat bekerja di rentang konsentrasi yang linier. Pada penelitian ini dilakukan analisis blanko sampel yang ditambahkan dengan sejumlah analit target pada 3 level konsentrasi yang berbeda.

Terdapat 2 komponen dalam presisi yaitu *repeatability* dan *reproducibility*. *Repeatability* merupakan presisi dari hasil uji yang diperoleh dari hasil pekerjaan menggunakan metoda yang sama, sampel uji yang sama, dilakukan di laboratorium yang sama, dikerjakan oleh operator yang sama dan juga menggunakan instrumen yang sama pada suatu interval waktu yang pendek. *Reproducibility* merupakan presisi dari hasil uji yang diperoleh dari pekerjaan menggunakan metoda yang sama, sampel uji yang sama namun dilakukan pada laboratorium yang berbeda oleh operator yang berbeda dan instrumen yang berbeda (*Inter-laboratory reproducibility*). Untuk mengetahui baik atau tidaknya nilai presisi yang diperoleh dari hasil pengujian biasanya dibandingkan dengan nilai  $2/3$  dari *coefficient of variation* (CV) Horwitz.

$$CV_{Horwitz} = 2^{(1-0.5 \log C)} \dots\dots\dots (3.2)$$

Dimana:

- CV=koefisien variasi
- C = fraksi konsentrasi analit

Perolehan kembali (*Recovery*) adalah fraksi analit yang ditambahkan ke dalam sampel uji (*fortified* atau *spiked*) sebelum analisis dan yang diperoleh kembali setelah analisis. Pada penentuan nilai perolehan kembali dilakukan analisis terhadap blanko sampel dan sampel yang kedalamnya ditambahkan standar analit target dengan level konsentrasi yang diketahui secara pasti. Dari hasil analisis akan diperoleh nilai konsentrasi target analit pada blanko sampel ( $C_2$ ) dan pada sampel yang ditambahkan dengan sejumlah standar target analit ( $C_1$ ). Perhitungan nilai perolehan kembali dapat dilakukan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Recovery}(\%) = \frac{(C_1 - C_2)}{C_3} \times 100 \dots\dots\dots (3.3)$$

Dimana:

$C_1$ =konsentrasi hasil analisis sampel yang ditambahkan dengan standar target analit

$C_2$ = konsentrasi hasil analisis blanko sampel

$C_3$ =konsentrasi standar target analit yang ditambahkan pada sampel

Pada penelitian ini dilakukan analisis blanko sampel yang ditambahkan dengan sejumlah standar analit target yang telah diketahui secara pasti konsentrasinya, sebanyak 6 kali ulangan. Setelah dianalisis dihitung nilai persen perolehan kembali dan repeatabilitasnya.

### 3.3.2 Penyiapan kandidat bahan acuan (BAM, ISO 35)

Penyiapan kandidat bahan acuan teh dimulai dari pembelian teh di pasar sebanyak 15 Kg untuk kemudian disortir dengan tujuan memisahkan batang-batang dan melati yang masih tercampur dengan daun teh. Setelah disortir, teh kemudian digrinding sehingga menjadi berbentuk serbuk. Setelah itu serbuk teh diayak (*Sieving*) dengan menggunakan beberapa saringan yang berbeda ukuran yaitu 250  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$ , 106  $\mu\text{m}$  dan 45  $\mu\text{m}$ . Adapun tujuan penyaringan tersebut adalah untuk mendapatkan butiran yang homogen sehingga akan memudahkan saat homogenisasi kandidat bahan acuan. Setelah mendapatkan kandidat bahan



acuan dengan butiran yang relatif homogen kemudian ditimbang 1 Kg teh untuk dijadikan kandidat bahan acuan. Ke dalam kandidat bahan acuan ditambahkan sejumlah standar dengan tahapan sebagai berikut; 50 g teh direndam dengan larutan standar campuran  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dan dihomogenkan dengan *rotary evaporator* sekaligus untuk menguapkan pelarutnya. Larutan standar  $\alpha$ -endosulfan untuk spiking dibuat dengan cara melarutkan 0,375 mg standar dengan 1-2 mL pelarut n-heksan sedangkan larutan standar bifentrin dibuat dengan cara melarutkan 0,597 mg standar dengan 1 - 2 mL n-heksan. Kemudian kedua larutan standar dicampurkan dan volume n-heksan ditambahkan menjadi 65 mL untuk merendam teh yang akan dispiking.

Sampel teh yang telah di *spiking* kemudian dicampurkan dengan 50 g sampel teh yang belum dispiking hingga homogen. Kemudian 100 g sampel yang telah dihomogenkan dicampurkan kembali dengan 100 g sampel teh yang belum dispiking dan seterusnya sehingga 1 Kg kandidat bahan acuan teh tercampur secara homogen. Untuk menghomogenkan 1 Kg sampel teh digunakan galon ukuran 10 Kg dan proses homogenisasi dilakukan selama kurang lebih 10 jam. Setelah itu kandidat bahan acuan yang telah dihomogenkan dibagi dan dikemas ke dalam 50 botol kaca gelap bertutup yang bernomor, dimana masing-masing botol berisi  $(20 \pm 1)$  g kandidat bahan acuan.

### 3.3.3 Uji homogenitas

Uji homogenitas diperlukan dalam sertifikasi untuk menunjukkan bahwa sekelompok botol (unit) memiliki nilai yang cukup homogen. Pada penelitian ini, 8 botol dipilih secara acak, dan masing-masing botol dianalisis sebanyak 3 kali (triplo) menggunakan metoda analisis yang telah dituliskan pada butir 3.3.1.1. Hasil yang diperoleh kemudian di analisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk dievaluasi apakah kandidat bahan acuan yang ada dalam 50 botol tersebut homogen atau tidak. Perhitungan dilakukan dengan cara menghitung *Mean Square Between (MSB)* dan *Mean Square Within (MSW)*. Kandidat bahan acuan dikatakan homogen apabila Nilai F hitung= $MSB/MSW$  lebih kecil daripada nilai F tabel.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Metoda analisis yang akurat, memiliki presisi yang baik, tertelusur ke standar yang sesuai serta disertai dengan data estimasi ketidakpastiannya mutlak dibutuhkan untuk menganalisis nilai konsentrasi senyawa target pada kandidat bahan acuan. Untuk menganalisis senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada matriks teh yang merupakan kandidat bahan acuan, dipilih metoda analisis multiresidu pestisida organoklor dan piretroid pada matriks tak berlemak yang dimodifikasi (Departemen Pertanian, 2006). Metoda analisis ini memiliki kinerja yang baik yang telah teruji keakuratannya pada kegiatan uji profisiensi. Proses optimasi kondisi instrumen analisa, modifikasi metoda analisis dan validasi metoda analisis dibahas pada sub bab 4.1 dan 4.2 berikut.

#### 4.1 Optimasi Kondisi Pemisahan di GC-ECD dan Modifikasi Metoda Analisis

Kondisi pemisahan masing-masing senyawa target dengan senyawa lain yang terdapat dalam hasil ekstrak pada sistem GC menjadi sangat penting untuk keberhasilan analisis secara kualitatif maupun kuantitatif. Optimasi kondisi pemisahan pada GC telah dilakukan yaitu dengan memvariasikan beberapa program temperatur pada oven dan perhitungan nilai resolusi (R) yang menunjukkan kondisi pemisahan masing-masing senyawa. Pemisahan dianggap baik apabila nilai  $R > 1$ . Formulasi untuk perhitungan nilai R adalah sebagai berikut:

$$R = \frac{2\Delta R_t}{(W_1 + W_2)} \dots\dots\dots (4.1)$$

Dimana:

R : Resolusi

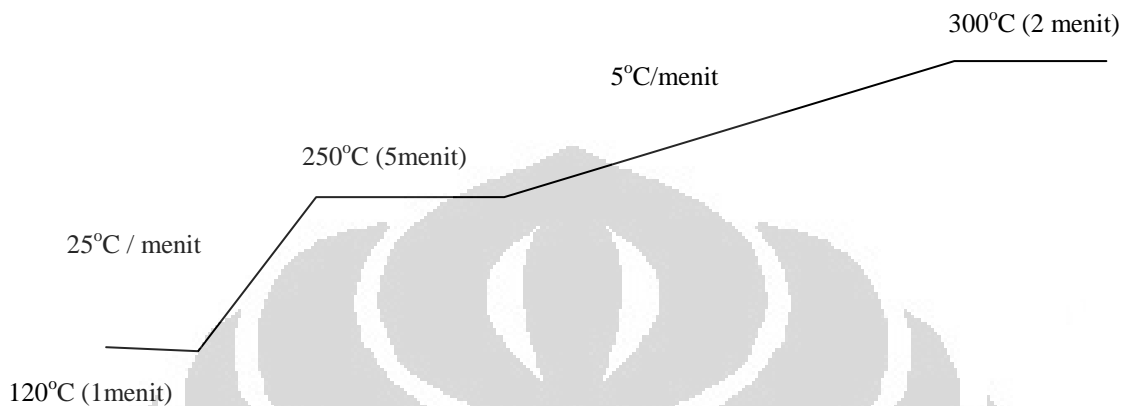
$\Delta R_t$  : Selisih waktu tambat dari kedua senyawa

$W_1$  : Lebar puncak senyawa 1

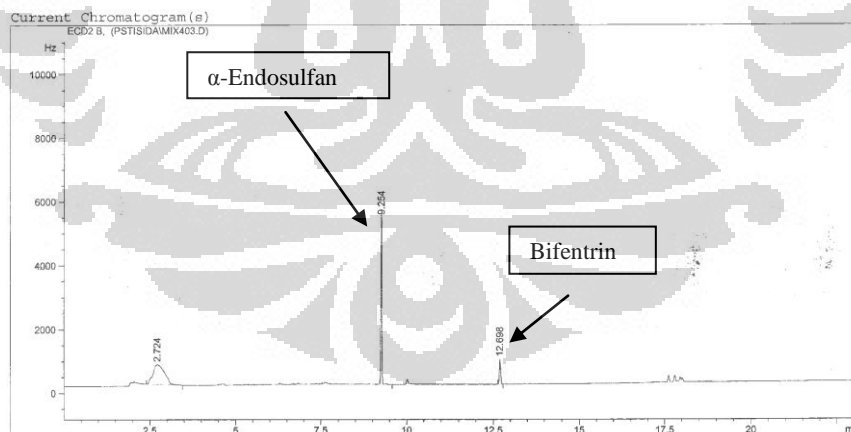
$W_2$  : Lebar puncak senyawa

#### 4.1.1 Kromatogram GC-ECD larutan standar $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin

Dengan mengatur kondisi operasional GC-ECD yang digunakan sesuai yang diperlihatkan pada Gambar 4.1 dihasilkan pemisahan yang cukup baik. Temperatur injektor 250°C; temperatur detektor 300°C; laju alir gas pembawa (Helium) 1 ml/menit dan temperatur oven terprogram:



Hasil analisis larutan standar campuran  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada kondisi operasional GC-ECD seperti yang telah disebutkan menunjukkan bahwa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing terdeteksi pada waktu tambat 9,31 dan 12,79 menit (Gambar 4.1).



**Gambar 4.1 Kromatogram standar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin**

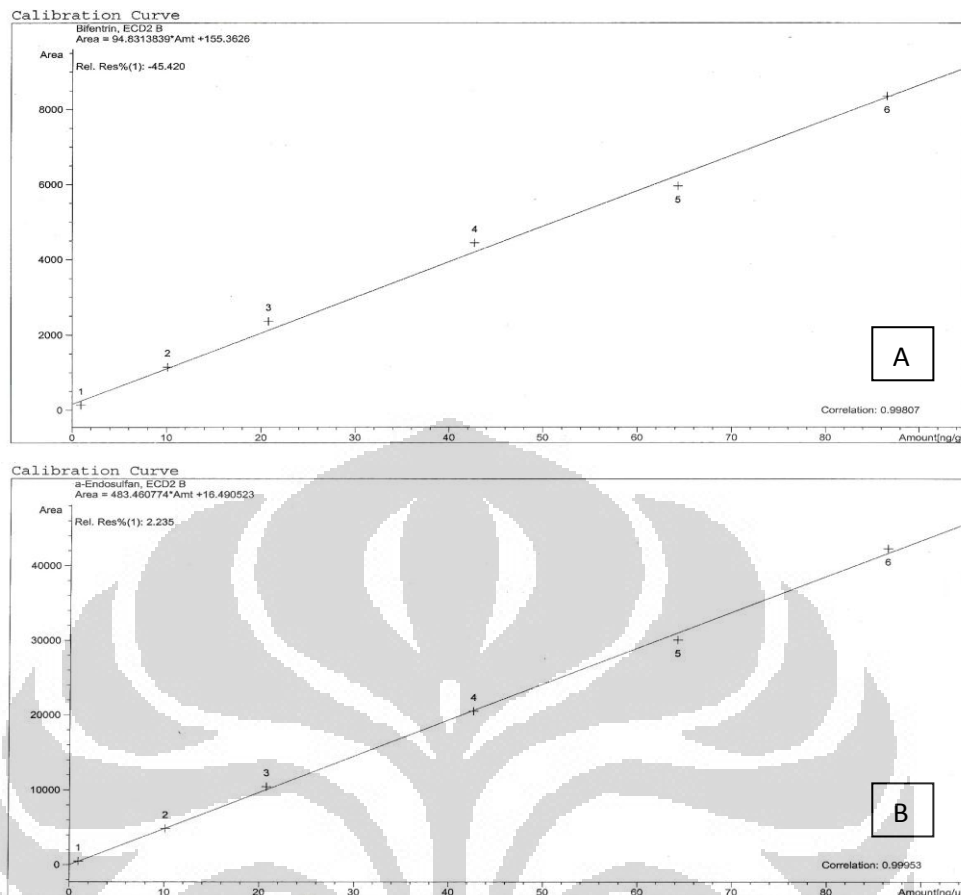
Setelah diperoleh kondisi pemisahan yang baik, kemudian dilakukan uji presisi waktu tambat dan area dengan menganalisis larutan standar campuran  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dengan konsentrasi 100 ppb sebanyak 7 kali ulangan. Hasil uji presisi yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai %RSD dari  $\alpha$ -

endosulfan dan bifentrin masing-masing adalah sebesar 0,026 dan 0,031% untuk waktu tambat dan 4,345% dan 5,321% untuk area (Tabel 4.1). Hal tersebut menunjukkan bahwa sistem GC-ECD yang digunakan dapat merespon dengan cukup stabil, karena nilai %RSD waktu tambat dan area untuk kedua senyawa lebih kecil dari 1% dan 10%.

**Tabel 4.1 Presisi Waktu Tambat (Rt) dan Area dari Senyawa  $\alpha$ -Endosulfan dan Bifentrin**

Ulangan	Waktu Tambat (Rt)		Area		
	$\alpha$ -Endosulfan	Bifentrin	$\alpha$ -Endosulfan	Bifentrin	
1	9,319	12,802	7417,92	1573,45	924,3
2	9,311	12,791	8407,91	1822,63	960,8
3	9,314	12,796	8119,64	1722,91	1149,6
4	9,312	12,790	7517,45	1575,15	1118,7
5	9,315	12,793	7961,93	1698,59	1045,5
6	9,313	12,790	7904,14	1696,79	
7	9,315	12,792		1744,71	
Rata-rata	9,314	12,793	7870,146	1690,604	
Std.Dev	0,0026	0,0043	341,957	89,962	
<b>RSD, %</b>	<b>0,0280</b>	<b>0,0337</b>	<b>4,345</b>	<b>5,321</b>	

Untuk mengetahui respon detektor pada berbagai nilai konsentrasi senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dilakukan uji linearitas. Pada uji ini 6 larutan standar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dengan konsentrasi berbeda yaitu 1, 10, 20, 40, 60 dan 80 ng/g diinjeksikan ke sistem GC-ECD. Hasil luas area untuk masing-masing senyawa diplotkan antara konsentrasi vs luas area. Hasil yang diperoleh adalah nilai  $r^2$  untuk kurva  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin lebih besar dari 0,995 (Gambar 4.2A dan 4.2B). Hasil tersebut menunjukkan bahwa respon detektor baik dan linier untuk mendeteksi adanya perubahan konsentrasi.



**Gambar 4.2 Kurva kalibrasi bifentrin (A) dan  $\alpha$ -Endosulfan (B)**

#### 4.1.2 Ulasan Metoda Analisis

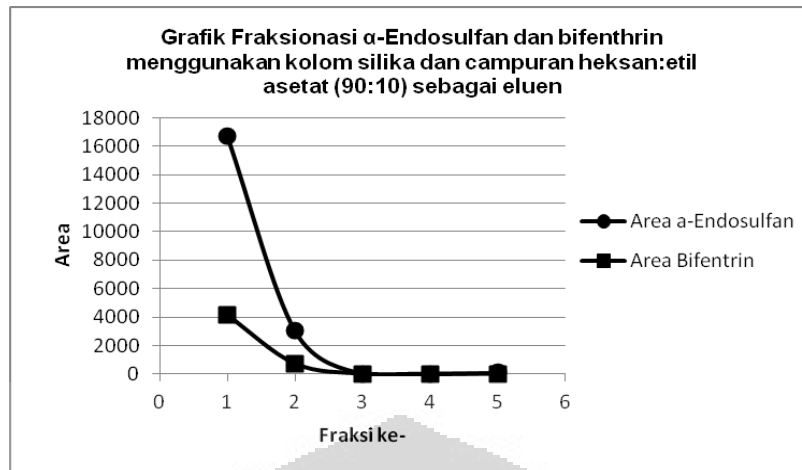
Metoda analisis residu pestisida dalam teh yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada Metoda Analisis Multiresidu Pestisida Organoklorin dan Piretroid pada Matriks tak Berlemak (Bumbu dan Rempah) yang diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, Direktorat Perlindungan Tanaman. (Departemen Pertanian, 2006). Sampel teh mengandung pigmen seperti klorofil dan karotenoid serta komponen aroma, polifenol dan kafein yang dapat mengganggu proses pemisahan senyawa-senyawa pada GC. Hal tersebut dapat menjadi koekstraktif yang menyulitkan saat analisis kualitatif dan kuantitatif. Pada metoda yang diacu, sebanyak 5 g sampel teh diekstraksi dengan campuran aseton/diklorometan (50/50 v/v) dan kemudian terdapat prosedur pemurnian menggunakan alumina/AgNO<sub>3</sub> sebagai adsorben, untuk memisahkan analit dari gangguan matrik pengganggu. Dalam pekerjaan ini, dilakukan modifikasi prosedur pemurnian dengan mencoba adsorben yang lain seperti silika gel dan

florisil. Untuk meminimalisasi koekstraktif dalam hasil ekstrak, selain mengganti adsorben untuk pemurnian juga dilakukan pengurangan jumlah sampel yang dianalisis yaitu yang seharusnya digunakan 5 g menjadi 2 g teh saja.

Proses pemurnian dilakukan dengan membandingkan dua fasa diam dalam kolom yaitu silika gel dan florisil serta eluen yang digunakan. Silika gel dan florisil (magnesium silikat) dipilih sebagai adsorben karena telah umum digunakan untuk pemurnian senyawa pestisida. Kedua jenis adsorben tersebut memiliki sifat mekanisme pemisahan yang mirip dengan alumina yaitu jenis ekstraksi polar atau fase normal dimana senyawa-senyawa polar akan tertahan pada adsorben (Alan J.H. 1999). Analit target  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin bersifat relatif lebih non polar dibandingkan dengan senyawa-senyawa pada matriks teh seperti polifenol, klorofil, dll, sehingga senyawa-senyawa matriks diharapkan dapat terikat pada adsorben, sedangkan analit target relatif lebih lemah terikat pada adsorben dan dapat dengan mudah dielusi dengan eluen yang bersifat non polar.

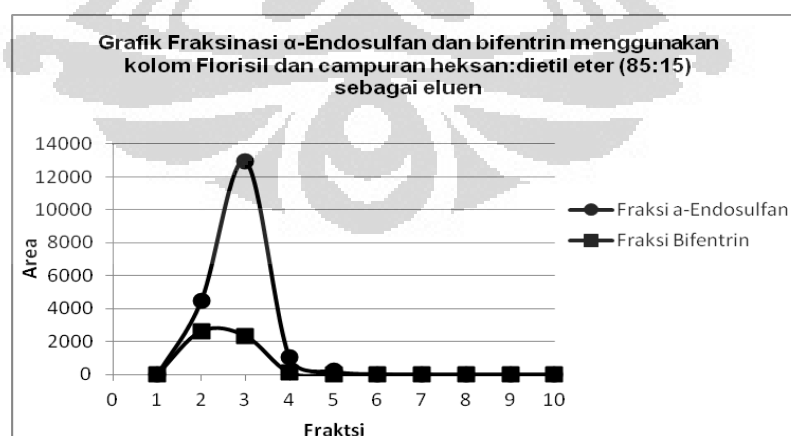
Pada pemurnian tersebut, campuran standar senyawa target dengan konsentrasi 20 ng/g dimasukkan ke dalam kolom yang mengandung 10 g silika gel, kemudian dielusi dengan 50 ml campuran n-heksan/etil asetat : 90/10 (v/v). Setiap 10 ml eluat ditampung, sehingga dihasilkan 5 fraksi. Kelima fraksi tersebut dipekatkan hingga volume akhir masing-masing menjadi sekitar 1,0 ml, kemudian sebesar 2  $\mu$ l disuntikkan ke GC-ECD. Evaluasi dari kromatogram memberikan gambaran profil elusi analit pada langkah clean-up tersebut (Gambar 4.3).

Dari Gambar 4.3, dapat disimpulkan sementara bahwa dengan digunakannya eluen n-heksan/etil asetat : 90/10 (v/v) sekitar 35 ml, senyawa target sudah terelusi seluruhnya. Untuk itu pada percobaan selanjutnya dapat digunakan volume eluen sebesar 40 ml.



**Gambar 4.3 Grafik fraksionasi  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin menggunakan kolom silika dan campuran heksan:etil asetat (90:10) sebagai eluen.**

Pada percobaan dengan menggunakan florisil sebagai adsorben, jumlah florisil yang digunakan adalah 10 g dan eluen yang digunakan adalah 100 ml campuran n-heksan/dietileter : 85/15 (v/v). Setiap 10 ml eluat ditampung, sehingga dihasilkan 10 fraksi. Ke sepuluh fraksi tersebut dipekatkan hingga volume akhir masing-masing menjadi sekitar 1,0 mL, kemudian sebesar 2  $\mu$ L disuntikkan ke GC-ECD. Dari gambar 4.4 terlihat bahwa  $\alpha$ -endosulfan dan bifenthrin telah terelusi hingga fraksi ke-6, dimana mulai fraksi ke 6 sudah tidak ada lagi  $\alpha$ -endosulfan dan bifenthrin yang terelusi.



**Gambar 4.4 Grafik Fraksionasi  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin menggunakan kolom florisil dan campuran heksan:dietil eter (85:15) sebagai eluen**

Untuk memilih metoda pemurnian yang terbaik dari kedua pilihan tersebut, maka setelah dilakukan fraksinasi dilakukan kemudian uji perolehan kembali. Sebanyak 1 mL larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya, dimasukkan ke dalam kolom yang berisi silika dan florisil, kemudian dielusi dengan eluen dan eluatnya dipekatkan hingga volume akhirnya menjadi 1 mL. Setelah itu larutan diinjeksikan ke GC-ECD dan hasil yang diperoleh dibandingkan dengan hasil injeksi dari larutan standar yang langsung diinjeksikan ke GC-ECD tanpa melalui kolom kromatografi terlebih dahulu. Nilai perolehan kembali dapat dihitung dengan cara membandingkan area standar dengan area hasil analisis melalui kolom kromatografi pada senyawa yang sama sebagai berikut:

$$\%R = \frac{A_{sample}}{A_{standar}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (4.2)$$

Dimana %R adalah perolehan kembali (%);  $A_{sampel}$  adalah Area suatu senyawa pada sampel dan  $A_{standar}$  adalah area suatu senyawa yang sama pada larutan standar.

Dari hasil analisis, akurasi yang ditunjukkan dengan perolehan kembali dalam 2 kondisi percobaan tercantum dalam Tabel 4.2. Pemurnian senyawa standar dengan menggunakan 10 g silika gel dan elusi dengan 40 mL campuran n-heksan/etil asetat : 90/10 (v/v), memberikan hasil perolehan kembali yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan pemurnian senyawa standar dengan menggunakan 10 g florisil dan elusi dengan 100 mL campuran n-heksan/dietil eter ( 85/15 (v/v)).

**Tabel 4.2 Perolehan kembali (%) senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin setelah melalui kolom silika gel dan florisil**

Senyawa	Silika gel			Florisil		
	Area Standar	Area Sampel	Perolehan kembali	Area Standar	Area Sampel	Perolehan kembali
<b><math>\alpha</math>-Endosulfan</b>	7464,18	2886,76	38,67	7577,21	6274,36	82,81
<b>Bifentrin</b>	1756,36	1046,51	59,58	1697,43	1657,58	97,65



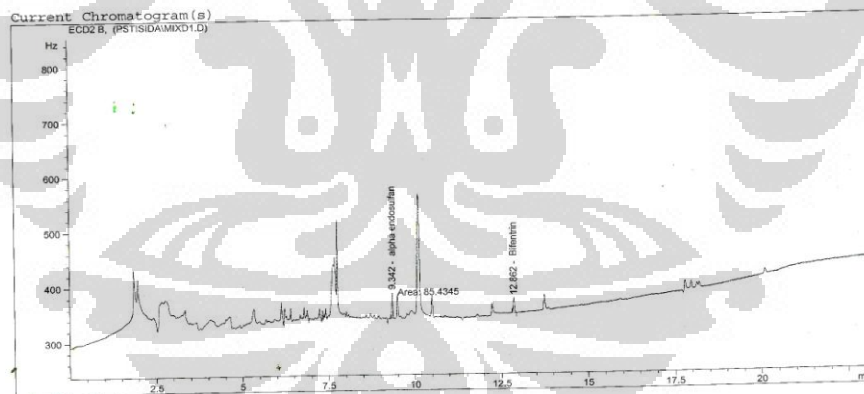
Dengan demikian untuk selanjutnya, pemurnian/pemisahan dilakukan dengan menggunakan 10 g florisil dan eluen campuran heksan:dietil eter (85:15 v/v).

## 4.2 Validasi Metoda Analisis Residu Pestisida dalam Teh

Validasi metoda analisis residu pestisida dalam teh telah dilakukan menggunakan sampel teh yang diperoleh dari pasaran yang telah dihaluskan. Pada kegiatan validasi metoda ini dilakukan pengujian terhadap parameter-parameter yang merupakan karakteristik kinerja kunci yang menunjukkan performa dari metoda analisis yang divalidasi. Hasil uji karakteristik kinerja kunci dijelaskan dalam 6 sub bab berikut ini.

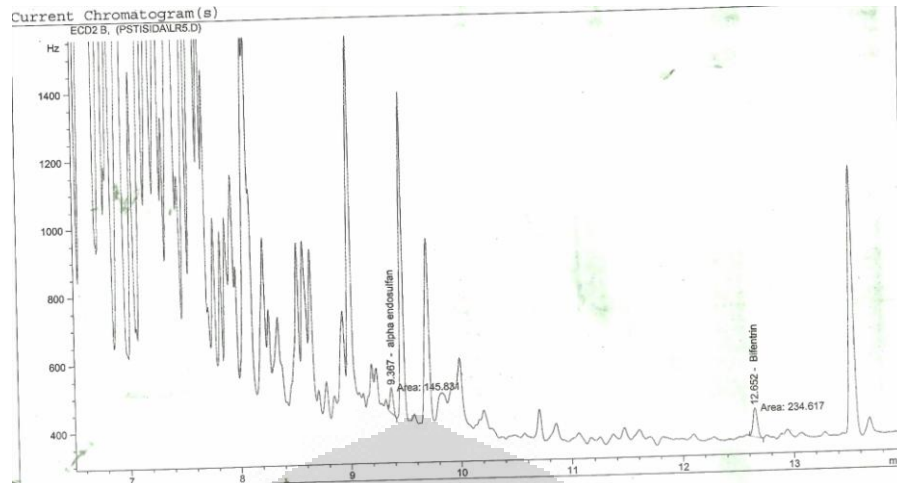
### 4.2.1 Limit Deteksi

Limit deteksi dari instrumen (IDL) untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin adalah 0,034 ng/g dan 0,335 ng/g. Puncak senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada konsentrasi batas deteksi kira-kira 3-5 kali dari tinggi puncak noise (Gambar 4.5).



**Gambar 4.5 Kromatogram  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada IDL**

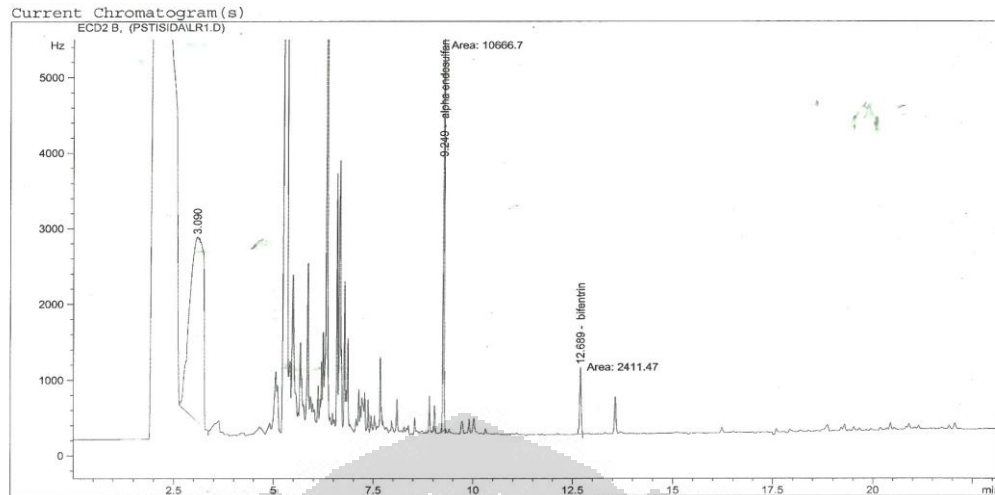
Limit deteksi metoda (MDL) dilakukan dengan menambahkan sejumlah standar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada beberapa level konsentrasi rendah ke dalam matriks teh dan kemudian dipreparasi sesuai tahapan dalam metoda analisis. Nilai MDL yang diperoleh adalah sebesar 0,5 ng/g, dimana puncak senyawa target yang dihasilkan memiliki tinggi kurang lebih tiga kali dari tinggi noise (Gambar 4.6).



**Gambar 4.6 Kromatogram  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada MDL**

#### 4.2.2 Selektivitas

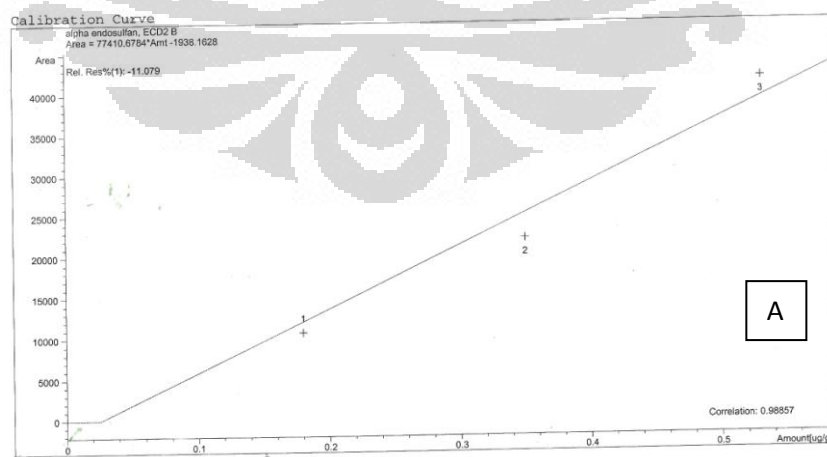
Dari hasil analisis sampel teh yang mengandung senyawa target  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin diperoleh kromatogram hasil analisis yang memperlihatkan bahwa puncak senyawa target dapat dibedakan dengan jelas dari puncak-puncak senyawa lain yang berasal dari matriks yang masih ada dalam hasil ekstrak setelah proses pemurnian dengan florisil (Gambar 4.7). Dengan demikian dapat disimpulkan sementara bahwa metoda analisis ini cukup selektif, karena puncak senyawa target terpisah dengan jelas dari puncak senyawa lain sebagai pengotor. Namun demikian pengecekan dengan analisis menggunakan teknik analisa yang berbeda seperti penggunaan kolom kapiler yang berbeda kepolarannya atau menggunakan detektor lain seperti *Mass Spectrometer* (MS) dapat dilakukan untuk mengetahui secara pasti selektivitas dari metoda analisis ini.

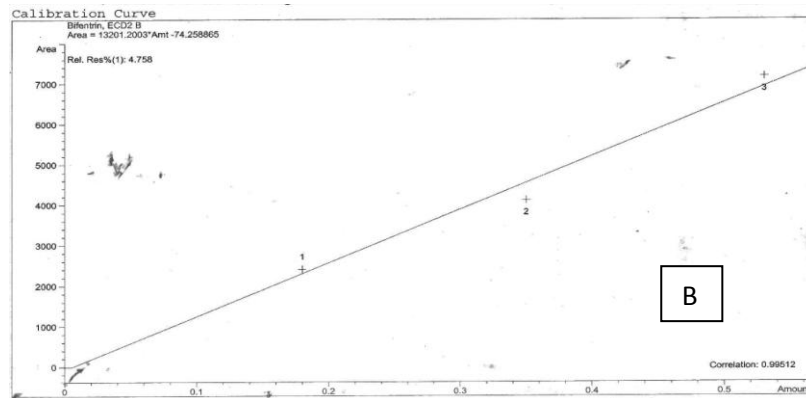


**Gambar 4.7 Kromatogram hasil ekstrak sampel teh hijau yang mengandung  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin**

#### 4.2.3 Linearitas

Uji linieritas dari metoda dilakukan dengan menganalisis 3 sampel teh yang mengandung senyawa target dengan konsentrasi yang berbeda di tiap sampelnya, yaitu 0,18; 0,35 dan 0,53  $\mu\text{g/g}$ . Dari hasil analisis dengan GC-ECD diperoleh nilai area puncak senyawa target yang kemudian diplotkan terhadap konsentrasi senyawa target, sehingga membentuk persamaan linier. Nilai  $r^2$  yang diperoleh untuk senyawa bifentrin dan  $\alpha$ -endosulfan adalah 0,995 dan 0,989 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.8.





**Gambar 4.8 Linieritas metoda analisis untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan(A) dan bifentrin (B)**

Dengan nilai  $r^2$  yang diperoleh dan profil dari kurva dapat disimpulkan bahwa metoda analisis yang sedang divalidasi ini memiliki linieritas yang cukup baik.

#### **4.2.4 Perolehan kembali dan Presisi**

Pada uji perolehan kembali dan presisi ini, sebanyak 6 buah sampel ditambahkan sejumlah standar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin sehingga di dalam sampel terdapat kedua senyawa target dengan konsentrasi masing-masing sekitar 270 ng/g. Ke 6 buah sampel tersebut kemudian dipreparasi dan kemudian dianalisis. Hasil perolehan kembali senyawa target yang ditambahkan ke dalam sampel adalah rata-rata sebesar 78,58% untuk  $\alpha$ -endosulfan dan 90,19% untuk bifentrin. Nilai perolehan kembali untuk analisis senyawa organik dalam konsentrasi yang sangat rendah (ppb) biasanya diperkenankan dalam rentang 70 – 120 % (Dokumen Uni Eropa, 2009). Untuk presisi yang diperoleh ditunjukkan dengan nilai % RSD sebesar 19,04% untuk  $\alpha$ -endosulfan dan 18,93% untuk bifentrin, seperti yang diperlihatkan pada Tabel 4.3. Nilai RSD tersebut masih dapat diterima karena lebih kecil dari  $\leq 20\%$  dan juga lebih kecil dibandingkan dengan nilai CV Horwitz.

**Tabel 4.3 Hasil perolehan kembali  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin**

Ulangan ke-	$\alpha$ -endosulfan			Bifentrin		
	Kons. Spiking (ng/g)	Hasil analisis (ng/g)	% Perolehan kembali	Kons. Spiking (ng/g)	Hasil analisis (ng/g)	% Perolehan kembali
1	274,6960254	216,08523	78,66	276,9524575	229,3175	82,80
2	291,4836398	238,89401	81,96	293,8779701	303,0402	103,12
3	281,0458106	277,89741	98,88	283,3544016	306,0773	108,02
4	271,9976382	172,2922	63,34	274,2319049	232,6256	84,83
5	262,9495173	233,87494	88,94	265,1094602	265,8199	100,27
6	237,9156357	142,04077	59,70	239,869943	148,9997	62,12
Rata-rata			<b>78,58</b>			<b>90,19</b>
Sd			14,96			17,08
RSD (%)			<b>19,04</b>			<b>18,93</b>
CV Horwitz			20,11			19,97

#### 4.2.5 Performa Metoda pada Kegiatan Uji Banding Antar laboratorium

Untuk mengetahui performa dari metoda analisis ini, telah diikuti kegiatan uji profisiensi di tingkat Asia pasifik yang diselenggarakan oleh *Asia pasific Metrology Program (APMP)*, mengenai analisis residu pestisida dalam teh. Pada kegiatan tersebut sebanyak 42 laboratorium di kawasan Asia Pasifik ikut berpartisipasi. Masing-masing peserta mendapatkan dua buah sampel teh, dimana salah satunya adalah sampel teh Oolong yang mengandung senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin. Nilai acuan untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan adalah sebesar  $34,2 \pm 4,6$  ng/g, sementara nilai penetapan untuk senyawa bifentrin adalah sebesar 853 ng/g. Performa dari masing-masing laboratorium peserta dievaluasi dengan membandingkan nilai hasil uji yang dilaporkan terhadap nilai acuan atau nilai penetapan menggunakan *Z-Scores* dan *En-Scores*. Nilai *Z-Scores* dihitung menggunakan persamaan berikut,

$$Z = \frac{(\chi - X)}{\sigma} \dots\dots\dots (4.3)$$

Dimana:

Z : Z-Scores

$\chi$  : Hasil dari peserta

X : Nilai yang ditetapkan

$\sigma$  : Standar deviasi (diperoleh dari nilai yang ditetapkan dikalikan dengan CV antar laboratorium).

Nilai Z- scores biasanya diinterpretasi sebagai berikut ini;

- a)  $|Z| \leq 2$  memuaskan
- b)  $2 < |Z| \leq 3$  dipertanyakan
- c)  $|Z| > 3$  tidak memuaskan

Sementara nilai En-Scores dihitung menggunakan persamaan berikut;

$$En = \frac{(\chi - X)}{\sqrt{U^2_{\chi} + U^2_X}} \dots\dots\dots (4.4)$$

dimana:

En : En-Scores

$\chi$  : Hasil dari peserta

X : Nilai yang ditetapkan

$U_{\chi}$  : Nilai ketidakpastian yang diperluas dari peserta

$U_X$  : Nilai ketidakpastian yang diperluas dari nilai yang ditetapkan

En Scores biasanya diinterpretasikan sebagai berikut:

- a)  $|En| \leq 1$  memuaskan
- b)  $|En| > 1$  tidak memuaskan

Hasil analisis sampel teh oolong yang diperoleh menggunakan metoda analisis yang divalidasi diperlihatkan pada Tabel 4.4 berikut ini.

**Tabel 4.4 Hasil analisis sampel teh oolong**

Sampel Oolong	$\alpha$ -Endosulfan	Bifentrin
Rata-rata hasil (per berat kering, ng/g), dari 6 kali pengulangan	39,78	1028,99
Ketidakpastian standar gabungan	7,25	107,44
K	2	2
Ketidakpastian diperluas untuk memberikan 95% kepercayaan (ng/g)	14,50	214,88

Nilai hasil analisis untuk kedua senyawa tersebut ditetapkan inlier karena hasil yang diperoleh memiliki nilai Z Score  $\leq 2$  dan nilai En-Scores  $\leq 1$ . Dengan demikian metoda analisis yang telah dimodifikasi dan tervalidasi ini memiliki kinerja atau performa yang baik.

#### 4.3 Estimasi Ketidakpastian

Estimasi ketidakpastian hasil pengukuran dapat dilakukan dengan memperkirakan komponen-komponen yang berkontribusi dalam memberikan nilai ketidakpastian. Masing-masing komponen ketidakpastian dapat dihitung dengan menggunakan tipe A ataupun tipe B berdasarkan metoda yang digunakan untuk evaluasi komponen tersebut. Ketidakpastian tipe A dapat dihitung secara statistik dari beberapa hasil pengamatan sebagai contoh nilai standar deviasi dari presisi metoda analisis. Ketidakpastian tipe B dihitung menggunakan data sekunder atau data yang telah ada sebelumnya seperti data percobaan yang telah ada sebelumnya, spesifikasi alat dari pabrik dan data yang diperoleh dari sertifikat.

Terdapat dua pendekatan dalam menghitung nilai ketidakpastian yaitu pendekatan “*Bottom-Up*” dan “*Top Down*”. Panduan umum untuk estimasi ketidakpastian hasil analisis yang dijabarkan dalam *ISO Guide to the Expression of Uncertainty of Measurement (GUM)* dan “*Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*” yang diterbitkan oleh EURACHEM menggunakan pendekatan *Bottom-Up* (EURACHEM, 2000 dan ISO GUM, 1995). Perhitungan nilai ketidakpastian dengan pendekatan *Top Down* menggunakan data-data dari hasil validasi metoda, intralaboratorium QC dan atau *interlaboratory studies*.

Pada penelitian ini, perhitungan ketidakpastian hasil analisis dilakukan dengan menggunakan pendekatan *Bottom –Up* karena dengan menghitung nilai ketidakpastian masing-masing komponen akan diketahui komponen mana yang menyumbang nilai ketidakpastian yang cukup besar sehingga untuk ke depannya dapat dilakukan perbaikan pada metoda analisis yang digunakan.

Perhitungan nilai ketidakpastian dengan pendekatan *Bottom –up* dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu mendefinisikan apa yang diukur, mengidentifikasi sumber ketidakpastian, menghitung ketidakpastian standar masing-masing komponen ( $u_{xi}$ ), menghitung ketidakpastian standar gabungan ( $u_c$ ) dan terakhir menghitung nilai ketidakpastian yang diperluas ( $U$ ).

Nilai ketidakpastian hasil analisis sampel uji profisiensi untuk  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dihitung sesuai dengan tahapan di atas sebagai berikut:

#### 4.3.1 Mendefinisikan apa yang diukur

Residu pestisida yang akan diukur menggunakan metoda analisis yang telah dijabarkan di atas adalah  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin yang diukur sebagai fraksi massa. Hasil konsentrasi kedua senyawa tersebut dilaporkan sebagai massa dalam ng  $\alpha$ -endosulfan atau bifentrin dalam 1 g teh (ng/g) yang diperoleh dari pengukuran menggunakan instrumen GC-ECD.

#### 4.3.2 Mengidentifikasi sumber ketidakpastian

Sumber-sumber ketidakpastian berasal dari komponen-komponen yang terdapat pada persamaan untuk menghitung konsentrasi analit di dalam sampel.

$$X = \frac{C_x \cdot W_1 \cdot W_2}{W_3 \cdot W_2 \cdot W_s} \times \frac{1}{1-M} \times \frac{1}{Re\ c} \times Re\ p \dots\dots\dots (4.5)$$

Sumber-sumber ketidakpastian dari metoda analisis yang digunakan berasal dari komponen-komponen yang terdapat dalam persamaan di atas yang dijelaskan pada Tabel 4.5.



**Tabel 4.5 Sumber-sumber ketidakpastian**

Simbol	Definisi	Unit
X	Konsentrasi analit di dalam sampel (basis kering)	ng/g
Wspl	Berat sampel	g
W 1	Berat larutan sampel dalam 10 mL n-heksan	g
W 2	Berat larutan sampel yang diambil untuk di clean-up (3 mL)	g
W 3	Berat larutan akhir dalam 1 mL n-heksan	g
C x	Konsentrasi analit pada larutan yang diukur	ng
Rec	Recovery metoda analisa	%
M	Kadar air dalam sampel	%
Repx	Presisi metoda analisa	-

### 4.3.3 Menghitung ketidakpastian standar ( $u_{xi}$ )

Tabel ringkasan data estimasi ketidakpastian standar untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada kandidat bahan acuan diperlihatkan pada Tabel 4.6 dan 4.7 berikut ini, sedangkan perhitungan secara rinci disediakan pada bagian lampiran.

**Tabel 4.6 Sumber data untuk estimasi ketidakpastian untuk penentuan  $\alpha$ -endosulfan**

Faktor dari persamaan perhitungan	Nilai Xi	Ketidakpastian standar $\mu(Xi)$	Unit	Tipe	Sumber data
Cx Konsentrasi $\alpha$ -endosulfan pada larutan yang dianalisis	7,7182	1,125	ng	B	Larutan standar
C20 (tipe B) Larutan kalibrasi konsentrasi 20 ng/g	23,455	0,0886	ng	B	Dievaluasi dari efek tipe B seperti kemurnian dan bias timbangan
C20 (Tipe A) Larutan kalibrasi konsentrasi 20 ng/g	23,455	0,0375	ng	A	Dievaluasi dari efek tipe A seperti presisi penimbangan dan pengukuran volume
fp Faktor pengenceran	8,005	0,00095		B	Dievaluasi dari pengenceran yang dilakukan secara gravimetri

<b>Wspl</b>	Massa sampel	2,0522	0,00014	g	B	Dievaluasi dari ketidakpastian timbangan
<b>M</b>	Kadar air untuk faktor koreksi per berat kering	1,036	0,0002			Dievaluasi dari hasil pengukuran kadar air
<b>Rec</b>	Perolehan kembali metoda	0,7858	0,069		A	Dievaluasi dari hasil uji perolehan kembali (6 replikasi)
<b>Repx</b>	Presisi metoda	1	0,065		A	Dievaluasi dari 6 kali analisis sampel

**Tabel 4.7 Sumber data untuk estimasi ketidakpastian untuk penentuan bifentrin**

Faktor dari persamaan perhitungan		Nilai Xi	Ketidakpastian standar $\mu(Xi)$	Unit	Tipe	Sumber data
<b>Cx</b>	Konsentrasi $\alpha$ -endosulfan pada larutan yang dianalisis	234,4091	6,245	ng	B	Larutan standar
<b>C200 (tipe B)</b>	Larutan kalibrasi konsentrasi 100 ng/g	215,98	0,82	ng	B	Dievaluasi dari efek tipe B seperti kemurnian dan bias timbangan
<b>C200 (Tipe A)</b>	Larutan kalibrasi konsentrasi 100 ng/g	215,98	0,46	ng	A	Dievaluasi dari efek tipe A seperti presisi penimbangan dan pengukuran volume
<b>fp</b>	Faktor pengenceran	7,843	0,0009		B	Dievaluasi dari pengenceran yang dilakukan
<b>Wspl</b>	Massa sampel	2,0457	0,00014	g	B	Dievaluasi dari ketidakpastian timbangan

<b>M</b>	Kadar air untuk faktor koreksi per berat kering	1,036	0,0002			Dievaluasi dari hasil pengukuran kadar air (duplo)
<b>Rec</b>	Perolehan kembali metoda	0,9019	0,079		A	Dievaluasi dari hasil uji perolehan kembali (6 replikasi)
<b>Repx</b>	Presisi metoda	1	0,05		A	Dievaluasi dari 6 kali analisis sampel

#### 4.3.4 Menghitung ketidakpastian standar gabungan ( $u_c$ )

##### 4.3.4.1 $C_x$

Untuk menentukan konsentrasi analit digunakan 4 larutan kalibrasi.

**Tabel 4.8 Data ke -4 larutan kalibrasi**

No	Jumlah (ng)	Area
1	1,3014	460,62
2	11,2931	3959,90
3	23,4555	8723,80
4	47,2469	19784,00

Pada uji profisiensi yang diikuti, sampel yang diterima dianalisis sebanyak 6 kali ulangan. Nilai rata-rata respon instrumen yang diperoleh adalah sebesar 2853,05. Dengan demikian perhitungan ketidakpastian asal  $C_x$  dijabarkan pada Tabel 4.9

Tabel 4.9 Perhitungan ketidakpastian standar untuk komponen C<sub>x</sub>

	xi	yi	yc	(yi-yc) <sup>2</sup>	(xi-x <sub>avg</sub> ) <sup>2</sup>
	1.301416	460.62	-45.0079	255659.6	381.1403774
	11.29314	3956.9	4190.797	54707.91	90.84181445
	23.45546	8723.8	9346.79	388116.4	6.923352607
	47.24692	19784	19432.74	123383	698.1584214
<b>Average</b>	<b>20.82423</b>	<b>8231.33</b>	<b>8231.33</b>	<b>205466.7</b>	<b>294.2659915</b>
<b>Sum</b>	<b>83.29693</b>	<b>32925.32</b>	<b>32925.32</b>	<b>821866.9</b>	<b>1177.063966</b>
<b>Slope</b>	<b>423.9315</b>				
<b>Intercept</b>	<b>-596.719</b>				
n	4				
N	6				
rsd	641.041				
C <sub>x</sub>	7.7182	ng			
S <sub>x</sub>	1.125	ng			

#### 4.3.4.2 C<sub>20</sub>

Larutan standar dengan kandungan  $\alpha$ -endosulfan 20 ng diperoleh dari hasil pengenceran larutan stok standar secara volumetrik dan gravimetrik.

$$C_{20} = \frac{m_{std} \cdot P \cdot V_2 \cdot m_1 \cdot m_3 \cdot m_5 \cdot m_7 \cdot m_8}{V_1 \cdot \rho \cdot V_3 \cdot m_2 \cdot m_4 \cdot m_6 \cdot m_8} \dots\dots\dots (4.6)$$

Ketidakpastian larutan standar C<sub>20</sub> dari efek tipe B dipengaruhi oleh kemurnian standar (*Purity*) dan efek temperatur sedangkan efek tipe A dipengaruhi oleh toleransi dan repeatabilitas labu ukur 10 mL dan presisi timbangan yang digunakan. Standar  $\alpha$ -endosulfan yang digunakan pada kegiatan uji profisiensi ini diperoleh dari Chemservice yang memiliki kemurnian sebesar 99,5 %.

**Tabel 4.10 Ketidakpastian standar C<sub>20</sub> dari efek tipe B**

Efek Tipe B	Ketidakpastian	Nilai (X)	<i>u</i> (X)
1. P - Spesifikasi kemurnian, <i>u</i> (P)	0,005	0,995	<b>0,0029</b>
2. Efek temperatur pada V <sub>1</sub> . - Efek temperatur (Variasi temperatur 3°C)	$= 3/\sqrt{3} * 0,001 * 10$	10 mL	<b>0,017 mL</b>
3. Efek temperatur pada V <sub>2</sub> . - Efek temperatur (Variasi temperatur 3°C)	$= 3/\sqrt{3} * 0,001 * 1$	1 mL	<b>0,0017 mL</b>
$\left(\frac{u_{B_{sd}}}{B_{sd}}\right)^2 = \left(\frac{u_{Pty}}{Pty}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{temp}}}{Volstd}\right)^2 + \left(\frac{u_{stdwt}}{stdwt}\right)^2$ $u_{B_{sd}} = 23.455 \cdot \sqrt{\left(\frac{0,0029}{0,995}\right)^2 + \left(\frac{0,017}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,0017}{1}\right)^2}$ $= 0,0886 \text{ ng}$			

**Tabel 4.11 Ketidakpastian standar C<sub>20</sub> dari efek tipe A**

Efek Tipe A	Ketidakpastian	Nilai (X)	<i>u</i> (X)
1. V <sub>1</sub> dan V <sub>3</sub> - Toleransi labu ukur 10 mL - Rep labu 10 mL <i>u</i> V <sub>1</sub> = <i>u</i> V <sub>3</sub>	0,025 mL	10 mL	<b>0,014 mL</b>  <b>0,020</b> <b>0,0024 mL</b>
2. V <sub>2</sub> - Toleransi pipet 1 mL - Rep pipet 1 mL <i>u</i> V <sub>2</sub>	0,007 mL	1 mL	<b>0,004 mL</b>  <b>0,005 mL</b> <b>0,006 mL</b>
3. m <sub>1</sub> , m <sub>2</sub> ,m <sub>3</sub> ,m <sub>4</sub> ,m <sub>5</sub> ,m <sub>6</sub> ,m <sub>7</sub> , ,m <sub>8</sub> - Presisi timbangan			<b>0,007 mg</b>

$$\left(\frac{u_{A_{std}}}{A_{std}}\right)^2 = \left(\frac{u_{m1}}{m_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{m2}}{m_2}\right)^2 + \left(\frac{u_{m3}}{m_3}\right)^2 + \left(\frac{u_{m4}}{m_4}\right)^2 + \left(\frac{u_{m5}}{m_5}\right)^2 + \left(\frac{u_{m6}}{m_6}\right)^2 + \left(\frac{u_{m7}}{m_7}\right)^2 + \left(\frac{u_{m8}}{m_8}\right)^2 + \left(\frac{u_{m9}}{m_9}\right)^2 + \left(\frac{u_{V1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{V2}}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{u_{V3}}{V_3}\right)^2$$

$$u_{A_{std}} = 23455 \sqrt{\left(\frac{0,007}{6419}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{63848}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{7112}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{74586}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{22138}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{231649}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{14274}\right)^2 + \left(\frac{0,007}{74055}\right)^2 + \left(\frac{0,0024}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,006}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,0024}{10}\right)^2}$$

$$= 0,15$$

Karena terdapat 4 larutan standa kalibrasi maka  $u(A_{std})=0,15/4=0,0375$

#### 4.3.4.3 fp (faktor Pengenceran)

pengenceran dilakukan secara gravimetri menggunakan timbangan Mettler Toledo AT 20 dan AT 200.

$$df = \frac{w1 \cdot w2}{w2 \cdot w3} \dots \dots \dots (4.7)$$

**Tabel 4.12 Ketidakpastian standar dari faktor pengenceran**

	Ketidakpastian	Nilai (X)	$u(X)$	Efek Tipe
1. $W_1$ - Ketidakpastian timbangan (95%CL) $u(W_1)$	0,0002 g	6,6185 g	0,0001 g  <b>0,00014 g</b>	B
2. $W_2$ Timbangan yang digunakan sama dengan $W_1$ $u(W_2) = u(W_1)$		1,7547 g	  <b>0,00014 g</b>	B
3. $W_3$ - Ketidakpastian timbangan (95%CL) $u(W_3)$	0,00003 g	0,8288 g	0,000015 g  <b>0,000021 g</b>	B

$$\mu(df) = df \cdot \sqrt{\left(\frac{\mu W_1}{W_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu W_2}{W_2}\right)^2 + \left(\frac{\mu W_2}{W_2}\right)^2 + \left(\frac{\mu W_3}{W_3}\right)^2}$$

$$\mu(df) = 8.005 \cdot \sqrt{\left(\frac{0.00014}{6.6188}\right)^2 + \left(\frac{0.00014}{1.7847}\right)^2 + \left(\frac{0.00014}{1.7847}\right)^2 + \left(\frac{0.00015}{0.8288}\right)^2} = 0.00095$$

#### 4.3.4.4 Berat Sampel ( $W_{spl}$ )

Tabel 4.13 Ketidakpastian standar dari komponen massa sampel

	Ketidakpastian	Nilai (X)	$u(X)$	Efek Tipe
$W_{spl}$		2,0522		
- Ketidakpastian timbangan (95%CL)	0,0002 g		0,0001 g	B
$u(W_{spl})$			<b>0,00014 g</b>	

#### 4.3.4.5 Kadar air (M)

$$M' = \frac{100}{100-M} ; M = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times (\text{Rep } p_M) \dots\dots\dots(4.8)$$

Dimana:

$M_1$  : Berat sampel teh sebelum dikeringkan

$M_2$  : Berat sampel teh setelah dikeringkan

$\text{Rep } p_M$  : Repeatabilitas penentuan kadar air

Nilai ketidakpastian M dihitung dengan rumus berikut:

$$\mu(M) = M \sqrt{\frac{\mu(M_1)^2 + \mu(M_2)^2}{(M_1 - M_2)^2} + \frac{\mu(M_1)^2}{M_1^2} + \mu(\text{Rep } p_M)^2} \dots\dots\dots (4.9)$$

Hasil pengukuran kadar air dilakukan duplo dan memberikan hasil sebesar 3,38% dan 3,60%. Nilai standar deviasi yang diperoleh adalah 0,15% atau 0,0015.

Ketidakpastian standar asal repeatabilitas adalah sebesar  $0,0015/\sqrt{2} = 0,001$ . Nilai

rata-rata kadar air adalah 3,49% atau 0,0349. Dengan demikian ketidakpastian standar gabungan untuk komponen M adalah:

$$\begin{aligned}\mu(M) &= 0.0349 \sqrt{\frac{0.00014^2 + 0.00014^2}{(1.0044 - 0.9693)^2} + \frac{0.00014^2}{1.0044^2} + 0.001^2} \\ &= 0.00020\end{aligned}$$

#### 4.3.4.6 Perolehan kembali (Rec)

$$Rec = \frac{C_{Obs}}{C_{Spiked}} \dots\dots\dots (4.10)$$

Dimana,

- Rec : Perolehan kembali metoda analisa  
 $C_{spiked}$  : Konsentrasi analit yang ditambahkan ke dalam sampel teh  
 $C_{obs}$  : Konsentrasi analit yang diamati

Ketidakpastian asal perolehan kembali dihitung berdasarkan persamaan berikut

$$\mu(Rec) = (Rec) \times \sqrt{\frac{S_{obs}^2}{n \cdot C_{Spiked}^2} + \left[\frac{\mu(C_{Spiked})}{C_{Spiked}}\right]^2} \dots\dots\dots (4.11)$$

Dimana,

- $\mu(Rec)$  : Ketidakpastian standar komponen perolehan kembali  
 $S_{obs}$  : standar deviasi hasil pengamatan dari analisis yang dilakukan berulang  
 $n$  : jumlah pengulangan  
 $\mu(C_{spiked})$  : ketidakpastian standar sampel yang dispiking

Konsentrasi standar untuk spiking ditentukan dari pengenceran larutan stok standar, sebagai berikut:

$$C_{Spiked} = \frac{m_{std} \cdot P \cdot V_2 \cdot m_1 \cdot m_3 \cdot 10^6}{V_1 \cdot \rho \cdot V_3 \cdot m_2 \cdot m_{recspl}} \text{ ng/g} \dots\dots\dots (4.12)$$



Tabel 4.14 Ketidakpastian standar dari komponen perolehan kembali

	Ketidakpastian	Nilai (X)	$u(X)$	Efek Tipe
<b>1. <math>m_{std}</math></b> - Ketidakpastian timbangan (95% CL) $u(m_{spl})$	0,0002 g	10,21 g	0,0001 g  <b>0,00014 g</b>	B
<b>2. P</b> - Spesifikasi kemurnian $uP$	0,005	0,995	0,0029  <b>0,0029</b>	B
<b>3. <math>V_2</math></b> - Toleransi pipet 1 mL - Efek temperatur (variasi temperatur 3°C) $uV_2$	0,007 mL  $= 3/\sqrt{3} * 0,001 * 1$	1 mL	0,004 mL  0,0017 mL  <b>0,0043 mL</b>	B  B
<b>4. <math>m_1</math></b> - Ketidakpastian timbangan (95% CL) $um_1$	0,03m g	64,19 m g	0,015 mg  <b>0,021 g</b>	B
<b>5. <math>m_3</math></b> - Ketidakpastian timbangan (95% CL) $um_3$	0,0002 g	0,0367 g	0,0001 g  <b>0,00014 g</b>	B
<b>6. <math>V_1</math></b> - Toleransi labu 10 mL - Efek temperatur (variasi temperatur 3oC ) $uV_1$	0,025 mL  $= 3/\sqrt{3} * 0,001 * 10$	10 mL	0,014 mL  0,017 mL  <b>0,0022 mL</b>	B  B

7. $\rho$ - Spesifikasi density $u\rho$	0,0069	0,69 g/mL	0,004 g/mL <b>0,004 g/mL</b>	
8. $V_3$ - Toleransi labu 10 mL - Efek temperatur (variasi temperatur 3oC ) $uV_3$	0,001 mL $= 3/\sqrt{3} * 0,001 * 1$	10 mL	0,014 mL 0,017 mL <b>0,0022 mL</b>	B B
9. $m_2$ - Ketidakpastian timbangan (95% CL) $um_3$	0,03 g	638,48 mg	0,015 mg <b>0,021 mg</b>	B
10. $m_{rec,spl}$ - Ketidakpastian timbangan (95% CL) $Um_{rec,spl}$	0,0002 g	2,026 g	0,0001 g <b>0,00014 g</b>	B
$C_{spike}$		<b>270,01</b>	<b>2,49</b>	

Uji perolehan kembali dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan (n). Nilai konsentrasi yang diperoleh rata-rata sebesar 218,97 ng/g ( $C_{obs}$ ) dengan standar deviasi sebesar 49,03 ( $S_{obs}$ ). Nilai perolehan kembali dari metoda analisis ini adalah 0,7858 (Rec). Dengan demikian, nilai ketidakpastian asal perolehan kembali ( $u_{Rec}$ ) dihitung sebagai berikut:

$$\mu(Rec) = 0.7858 \times \sqrt{\frac{57.52^2}{6 \times 270.01^2} + \frac{2.49^2}{270.01^2}} = 0.069$$

#### 4.3.4.7 Rep<sub>x</sub> (Repeatabilitas metoda)

Analisis  $\alpha$ -endosulfan dalam teh Oolong dilakukan sebanyak 6 kali dimana nilai RSD dari hasil pengukuran adalah sebesar 0,1583. Dengan demikian nilai ketidakpastian standar dari repeatabilitas metoda analisis adalah sebesar  $0,1583/\sqrt{6}=0,065$

ketidakpastian gabungan dapat dihitung menggunakan persamaan 4.13.

$$u_X = X \sqrt{\frac{u(C_x)^2}{(C_x)^2} + \frac{u(W_3)^2}{(W_3)^2} + \frac{u(W_s)^2}{(W_s)^2} + \frac{u(df)^2}{(df)^2} + \frac{u(M')^2}{(M')^2} + \frac{u(Rec)^2}{(Rec)^2} + \frac{u(Rep_x)^2}{(Rep_x)^2}} \dots\dots\dots(4.13)$$

**Tabel 4.15 Ketidakpastian gabungan dari masing-masing komponen sumber ketidakpastian**

No.	Sumber	Nilai	u	Ketidakpastian standar relatif (%)	Unit
1	C <sub>x</sub>	7,7182	1,125	14,57594	ng
2	C20 (efek tipe B)	23,455	0,0886	0,377745	ng
3	C20 (efek tipe A)	23,455	0,0375	0,159881	ng
4	F <sub>p</sub>	8,005	0,00095	0,011868	
5	W <sub>spl</sub>	2,0522	0,00014	0,006822	g
6	M'	1,036	0,0002	0,019305	
7	Rec	0,7858	0,069	8,78086	
8	Rep	1	0,065	6,5	
	X	39,7792	7,25	18,22561	ng/g

#### 4.3.5 Menghitung nilai ketidakpastian yang diperluas (U)

Dengan menggunakan nilai coverage factor (k)=2 (pada tingkat kepercayaan 95%), maka nilai ketidakpastian yang diperluas adalah:

$$U = 2 \times 7,25 \text{ ng/g}$$

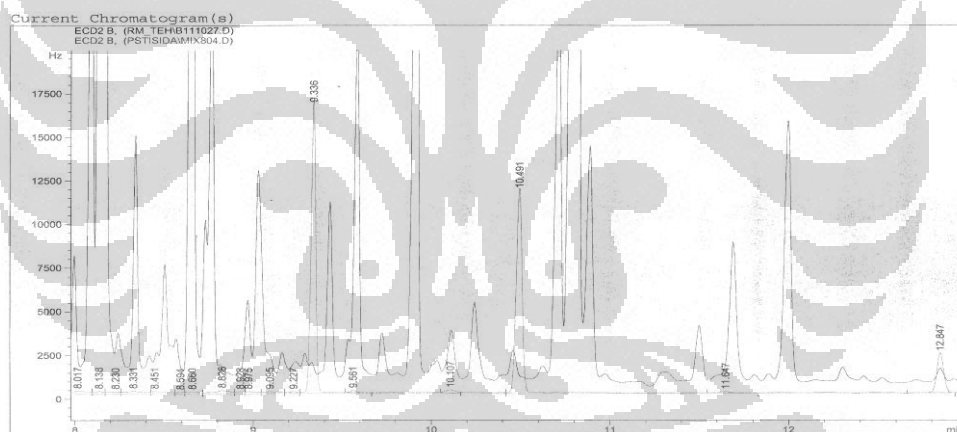
$$= \mathbf{14,50 \text{ ng/g}}$$

Dengan demikian konsentrasi  $\alpha$ -endosulfan yang dilaporkan pada uji profisiensi adalah sebesar:  $\mathbf{39,78 \pm 14,50 \text{ ng/g}}$

Perhitungan ketidakpastian untuk senyawa bifentrin dilakukan dengan cara dan tahapan yang sama dengan yang telah dijabarkan di atas.

#### 4.4 Aplikasi Metoda Analisis yang Telah Dimodifikasi pada Teh Hitam

Ketika metoda analisis ini diaplikasikan pada sampel teh kandidat bahan acuan yang merupakan jenis teh hitam, ternyata terdapat permasalahan yaitu banyaknya senyawa-senyawa pengganggu yang ikut terekstrak sehingga menyulitkan dalam melakukan analisis secara kualitatif maupun kuantitatif (Gambar 4.9).

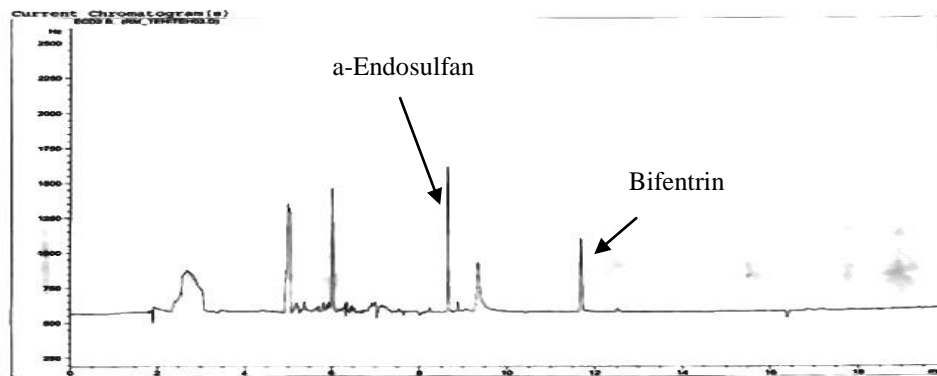


**Gambar 4.9 Kromatogram hasil analisis sampel teh kandidat bahan acuan yang dioverlay dengan kromatogram standar.**

Investigasi kemudian dilakukan untuk mengetahui mengapa hal ini dapat terjadi. Dari literatur diketahui bahwa ternyata jenis teh hitam mengandung senyawa volatil yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis teh hijau ataupun oolong, dimana teh hitam mengandung sekitar 404 senyawa mudah menguap (volatil) sedangkan teh hijau mengandung sekitar 230 komponen volatil. Komponen volatil tersebut berperan dalam memberikan cita rasa yang khas pada teh (Pambudi J., 2006). Dengan demikian dicoba mengekstraksi senyawa target

dalam kandidat bahan acuan menggunakan campuran pelarut aseton dan n-heksan. Aseton tetap digunakan karena aseton merupakan pelarut organik yang sangat kuat dikarenakan sifatnya yang semipolar. Pelarut n-heksan dipilih karena sifatnya yang relatif lebih non polar dibandingkan dengan diklorometan sehingga diharapkan campuran aseton dengan n-heksan tidak terlalu kuat dalam mengekstrak matriks teh dibandingkan dengan campuran aseton dan diklorometan. Namun demikian, campuran aseton dan n-heksan diharapkan tetap dapat mengekstrak senyawa target dengan baik, karena kedua senyawa target dapat mudah larut dalam n-heksan.

Campuran aseton/n-heksan (20/40 v/v) kemudian digunakan untuk mengekstraksi 2 g kandidat bahan acuan teh, kemudian hasil kestrak dimurnikan dengan kolom florisil. Hasil yang diperoleh kromatogram yang dihasilkan jauh lebih bersih sehingga senyawa target dapat terpisah dengan baik dari puncak-puncak *background* yang berasal dari matriks teh hitam (Gambar 4.10). Nilai indeks polaritas campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v) ( $P'_{AH}$ ) adalah sebesar 1,765 yang lebih kecil bila dibandingkan dengan nilai indeks polaritas campuran pelarut aseton/diklorometan (50/50 v/v) ( $P'_{AD}$ ) yang sebesar 4,1. Dengan demikian campuran pelarut aseton/diklorometan (50/50 v/v) bersifat lebih polar dibandingkan dengan campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v). Matriks teh hitam mengandung banyak senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti polifenol, flavonoid, kafein, klorofil, dll. Senyawa-senyawa matriks yang bersifat polar tersebut akan lebih banyak terekstrak pada campuran pelarut aseton/diklorometan (50/50 v/v) dibandingkan pada campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v), sehingga pada hasil ekstrak dengan campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v) akan lebih sedikit mengandung komponen matriks. Hal tersebutlah yang menjadikan kromatogram hasil ekstrak dengan campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v) menjadi lebih bersih.



**Gambar 4.10** Kromatogram hasil ekstraksi sampel teh hitam menggunakan campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v).

Setelah diperoleh kromatogram yang bersih sehingga akan memudahkan dalam melakukan analisis secara kualitatif dan kuantitatif, kemudian dilakukan uji perolehan kembali dan presisi dari metoda yang baru ini. Nilai perolehan kembali untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing adalah sebesar 77,34 % dan 96,18 %. Nilai tersebut mirip dengan nilai perolehan kembali untuk kedua senyawa tersebut yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan campuran pelarut aseton/diklorometan (50/50 v/v). Nilai %RSD yang menggambarkan presisi dari metoda ini sekitar 18,96 % untuk  $\alpha$ -endosulfan dan 13,37% untuk bifentrin, dimana %RSD keduanya masih lebih kecil dari 20 % dan dari CV Horwitz meskipun masih lebih besar dar 2/3 CV Horwitz (Tabel 4.16).

**Tabel 4.16** Hasil perolehan kembali  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dengan larutan pengestrak campuran aseton/n-heksan

No	% Perolehan kembali	
	$\alpha$ -endosulfan	Bifentrin
1	60,35	100,13
2	70,71	76,65
3	73,61	91,95
4	94,26	119,26
5	87,77	92,91
Rata2	77,34	96,18
sd	13,6162	15,4782
rsd	17,6056	16,0929
CV Horwitz	20,8905	16,2558

Dengan demikian selanjutnya untuk menganalisis teh kandidat bahan acuan digunakan campuran pelarut aseton/n-heksan (20/40 v/v) dan pemurnian menggunakan kolom florisil.

#### 4.5 Ketertelusuran

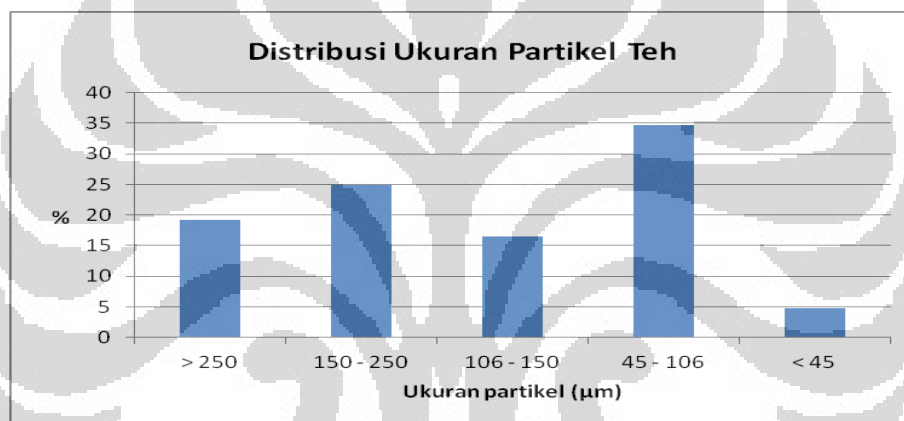
Metoda analisis ini tertelusur ke SI unit yaitu massa (g) karena semua proses dalam tahapan pengerjaan analisis dilakukan dengan penimbangan (secara gravimetri) sehingga satuan yang diperoleh adalah dalam bentuk fraksi massa (ng/g) melalui CRM *pure substance*  $\alpha$ -endosulfan yang diperoleh dari *National Measurement Institute Australia* (NMIA). CRM *pure substance* yang digunakan berupa serbuk standar yang diketahui secara jelas nilai kemurnian yaitu sebesar minimum 99% dalam fraksi massa. Untuk senyawa bifentrin, serbuk standar yang digunakan bukan CRM *pure substance* karena tidak tersedia di NMIA, sehingga digunakan serbuk standar yang dibeli dari ChemService. Namun demikian, informasi kemurnian standar bifentrin tersedia, yaitu sebesar 99,1%.

#### 4.6 Penyiapan kandidat bahan acuan

Pembuatan bahan acuan pestisida dalam teh pernah dilakukan oleh NIM China pada tahun 2009 seperti yang telah dipaparkan pada butir 2.5. Namun demikian terdapat perbedaan dengan pengembangan bahan acuan yang dilakukan dalam penelitian ini, dimana pada penelitian ini digunakan matriks teh hitam yang relatif lebih banyak mengandung komponen volatil dibandingkan dengan jenis teh oolong. Selain itu juga, matriks teh yang digunakan dipilih yang tidak mengandung residu  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin. Dengan demikian dalam pembuatan bahan acuan pada penelitian ini dilakukan penambahan (*spiking*) senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin. Cara penambahan (*spiking*) pada matriks padatan cukup sulit dilakukan berbeda dengan *spiking* pada matriks cair. Proses homogenisasi pada matriks padatan juga relatif sulit dilakukan dibandingkan pada matriks cair. Berbagai tahapan untuk mempersiapkan kandidat bahan acuan telah dilakukan, mulai dari pembelian teh di pasar tradisional, penyortiran, penghalusan material dan pengayakan dan hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut:

##### 4.6.1 Pengumpulan, penyortiran, penghalusan material, pengayakan

Sebanyak kurang lebih 15 Kg teh hitam dengan merek Nutu yang dibeli dari pasar tradisional di daerah Serpong. Pada teh tersebut masih banyak terdapat batang dan bunga melati sebagai campuran, sehingga perlu dilakukan penyortiran untuk memisahkan daun teh dengan batang besar, melati dan barang lain yang terdapat dalam bungkus teh. Setelah proses penyortiran, teh kemudian dihaluskan menggunakan blender stainless steel. Setelah itu kemudian dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan dengan ukuran 250, 150, 106 dan 45  $\mu\text{m}$  untuk mengetahui distribusi ukuran partikel dari material yang telah dihaluskan. Profil dari distribusi ukuran partikel yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 4.11 berikut ini.



**Gambar 4.11** Distribusi ukuran partikel teh yang telah dihaluskan

Pada penelitian ini, teh dengan ukuran partikel 106 – 150  $\mu\text{m}$  yang dipilih untuk dijadikan kandidat bahan acuan. Untuk mengetahui nilai kadar air dari kandidat bahan acuan, dilakukan analisis kadar air menggunakan metoda gravimetri sebanyak 7 kali ulangan. Sampel teh dipanaskan pada oven dengan temperatur 105°C selama semalaman, kemudian dihitung berat setelah pemanasan. Setelah itu dilakukan kembali pemanasan selama 2 jam dan berat teh kembali ditimbang. Hal tersebut dilakukan berulang kali hingga diperoleh berat teh setelah pemanasan yang konstan. Nilai rata-rata kadar air yang diperoleh adalah sebesar 5,99 % seperti yang diperlihatkan pada Tabel 4.17.

**Tabel 4.17** Data kadar air sampel kandidat bahan acuan



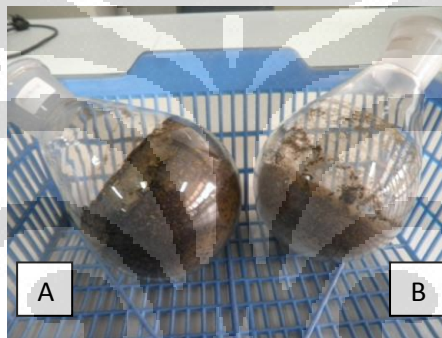
Pengulangan ke-	Kadar air (%)
1	5,99
2	5,96
3	6,05
4	5,91
5	6,02
6	5,98
7	6,01
Rata2	5,988571429
Sd	0,045250625
%RSD	0,75561635

#### 4.6.2 Spiking

Salah satu cara pembuatan bahan acuan adalah melalui teknik spiking (penambahan analit ke dalam matriks). Masalah utama pada pembuatan bahan acuan melalui teknik spiking adalah dalam pencapaian homogenitas dan stabilitas yang memadai dari kandidat bahan acuan yang disiapkan. Penggunaan metoda spiking yang tepat dapat menghasilkan bahan yang memenuhi persyaratan homogenitas dan stabilitas, bahkan untuk bahan padat sekalipun. Metoda spiking yang sesuai bagi bahan padat adalah misalnya teknik pembasahan dimana analit yang akan dispiking dilarutkan ke dalam pelarut dengan jumlah yang sekedar cukup untuk membasahi seluruh permukaan bahan padat (ISO Guide 35).

Sebelum dilakukan spiking, terlebih dahulu dilakukan pemilihan pelarut organik untuk melarutkan serbuk standar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin yang telah ditimbang massanya. Kemudian larutan standar tersebut digunakan untuk merendam 50 g teh. Jumlah pelarut yang digunakan juga diujicoba terlebih dahulu volumenya, sehingga dapat merendam 50 g teh secara sempurna dan permukaan pelarut kira-kira 1 cm berada di atas permukaan sampel teh yang akan dispiking. Berdasarkan ISO Guide 35, jenis pelarut organik yang memenuhi syarat untuk spiking adalah yang memiliki sifat membasahi material yang akan dispiking, dapat melarutkan analit atau standar yang digunakan untuk spiking dan seminimal mungkin tidak mengekstrak matriks. Untuk pemilihan pelarut ini dipilih aseton dan heksan untuk dibandingkan, karena kedua analit dapat larut dengan baik pada

kedua jenis pelarut tersebut. Masing-masing 50 g teh direndam dengan aseton dan heksan lalu setelah didiamkan beberapa saat, pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasilnya pada teh yang direndam dengan aseton, aseton berwarna sangat hijau dan ketika selesai dievaporasi pada dinding labu evap terdapat kerak berwarna hijau yang berasal dari komponen matriks yang terekstrak oleh aseton. Sedangkan pada teh yang direndam dengan n-heksan, pelarut lebih jernih dan pada dinding labu evap sangat sedikit terlihat kerak berwarna hijau. Hasil tersebut diperlihatkan pada Gambar 4.12. Adanya kerak hijau pada dinding labu evap akibat perendaman dengan aseton, dikhawatirkan akan mengurangi konsentrasi senyawa pestisida yang dispike ke matriks teh, karena akan menempel pada kerak yang mengering di dinding labu evap tersebut.



**Gambar 4.12 Material teh yang telah direndam dengan pelarut  
A) Aseton dan B) n-heksan**

Untuk menghindari hal tersebut, maka n-heksan dipilih sebagai pelarut untuk proses spiking.

Selanjutnya dilakukan spiking terhadap 1 Kg material teh dengan tahapan sebagai berikut ini: 50 g material teh direndam dengan sekitar 65 mL larutan standar yang mengandung 0,375 mg  $\alpha$ -endosulfan dan 0,597 mg bifentrin. Dengan demikian diharapkan pada 50 g teh akan terdapat  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin dengan konsentrasi masing-masing sebesar 7980 ng/g dan 12704 ng/g. Setelah dilakukan evaporasi hingga kering pada tekanan 600 mbar dan temperatur 40°C, dilakukan analisis sebanyak duplo pada teh yang telah dispike untuk mengetahui apakah nilai hasil analisis sesuai dengan nilai teoritis untuk analit yang terdapat dalam material teh tersebut. Hasilnya diperlihatkan pada Tabel 4.18.

**Tabel 4.18 Hasil analisis kandidat bahan acuan teh yang dispike**

No. pengulangan	$\alpha$ -endosulfan (ng/g)	Bifentrin (ng/g)
1	6395,2790	11049,4214
2	5766,3363	10079,0580
Rata-rata	6080,8077	10564,2397

Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan konsentrasi teoritisnya. Nilai hasil analisis cukup sebanding dengan nilai teoritisnya. Kemudian untuk dapat lebih homogen, dilakukan rotasi pada labu evap yang berisi kandidat bahan acuan yang telah dispike selama kurang lebih 6 jam pada temperatur dan tekanan ruang. Selanjutnya dilakukan homogenisasi dengan 950 g teh yang belum dispike secara bertahap, sehingga diperoleh 1 Kg kandidat bahan acuan. Proses homogenisasi dilakukan menggunakan galon ukuran 10 Kg. Setelah dilakukan homogenisasi selama total kurang lebih 10 jam, dilakukan analisis kandidat bahan acuan sebanyak 3 kali ulangan untuk memperoleh gambaran apakah sudah mendekati homogen ataukah belum. Hasil yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 4.19.

**Tabel 4.19 Analisis kandidat bahan acuan setelah dihomogenisasi sebelum dimasukkan ke dalam botol**

	$\alpha$ -endosulfan (ng/g)	Bifentrin (ng/g)
1	455,7191311	577,7052759
2	603,5192397	713,5350152
3	423,844336	516,3325916
Rata-rata	494,3609023	602,5242943
Sd	95,86791752	100,9167316
%RSD	19,39229358	16,74898964

Nilai  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada sampel 1 dan 3 sangat dekat sedangkan nilai pada sampel 2 masih cukup jauh. Dengan demikian dapat diperoleh gambaran sementara bahwa proses homogenisasi sudah cukup baik namun masih perlu dilakukan homogenisasi tambahan. Untuk itu dilakukan proses homogenisasi tambahan selama kurang lebih 1 jam.

Tahap selanjutnya yaitu pengepakan kandidat bahan acuan ke dalam botol kaca gelap bertutup, dimana masing-masing botol berisi  $20 \pm 1$  g kandidat bahan acuan, sehingga diperoleh 50 botol berisi kandidat bahan acuan.

#### 4.7 Uji homogenitas

Pada uji homogenitas ini, 80 buah botol berisi kandidat bahan acuan dipilih secara acak, kemudian dianalisis triplo untuk masing-masing botol. Hal tersebut dimaksudkan untuk mengetahui apakah terdapat ketidakhomogenan antar botol (*between*) atau di dalam botol (*within*).

Hasil yang diperoleh kemudian diuji secara statistik menggunakan ANOVA satu arah dimana dilakukan uji F pada 95% tingkat kepercayaan. Hasil analisis dalam fraksi massa per berat kering beserta tabel ANOVA yang diperoleh melalui perhitungan menggunakan *software excell* diperlihatkan pada Tabel 4.20 sampai dengan Tabel 4.21. Perhitungan ANOVA secara detail terdapat di Lampiran 2.

**Tabel 4.20 Data uji homogenitas senyawa  $\alpha$ -endosulfan**

No. Botol	$\alpha$ -endosulfan (ng/g) pada ulangan ke-		
	1	2	3
2	299,6883	394,7012	310,1751
26	339,6941	584,1336	245,6954
27	364,4964	647,0960	315,2475
32	386,7077	440,9602	275,5477
41	427,6100	380,9805	402,6311
36	394,7682	382,3232	334,7429
38	356,9353	474,2532	322,7490
18	400,0827	371,6887	274,9024

#### ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	23412,93	7	3344,704	0,316346	0,935764	2,657197
Within Groups	169166,6	16	10572,92			
Total	192579,6	23				

**Tabel 4.21 Data uji homogenitas senyawa bifentrin**

No. Botol	Ulangan ke-		
	1	2	3
2	421,2977584	596,0048326	457,720233
26	476,5388064	581,4088501	349,876012
27	685,485706	576,3609898	552,431499
32	508,5240757	515,1074236	472,832838
41	663,8583406	510,1027074	540,380687
36	591,9603493	566,1612809	531,315142
38	450,0815138	619,7119651	553,412718
18	470,4897073	409,9914707	444,590376

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	66098,64	7	9442,663	1,745636	0,168415	2,657197
Within Groups	86548,77	16	5409,298			
Total	152647,4	23				

Uji homogenitas ini dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat ketidakhomogenan antarbotol. Hipotesis nul pada uji statistika ini adalah  $S^2_{\text{within}} = S^2_{\text{between}}$  sedangkan hipotesis alternatif nya adalah  $S^2_{\text{within}} \neq S^2_{\text{between}}$ . Nilai F hitung untuk  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing lebih kecil dari nilai F kritis yang sebesar 3,86 ( $F < F_{\text{crit}}$ ). Dengan demikian Hipotesisi nul diterima yang artinya tidak terdapat perbedaan fraksi massa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin yang signifikan pada botol-botol yang diuji, sehingga dapat dikatakan kandidat bahan acuan yang dibuat adalah homogen.

#### 4.8 Nilai Ketidakpastian Hasil Analisis pada Uji Homogenitas

Untuk menghitung nilai ketidakpastian hasil analisis sampel uji homogenitas dilakukan langkah-langkah yang sama dengan yang dijabarkan pada sub bab 4.3. Sumber-sumber ketidakpastian berasal dari komponen-komponen yang terdapat pada persamaan untuk menghitung konsentrasi analit di dalam sampel. Pada metoda yang digunakan ini, perhitungan konsentrasi analit dihitung menggunakan rumus berikut:

$$X = \frac{C_x \cdot W_3}{W_s} \times \frac{W_1 \cdot W_5}{W_2 \cdot W_4} \times \frac{1}{1-M} \times \frac{1}{\text{Rec}} \dots\dots\dots(4.14)$$

yang dapat disederhanakan menjadi:

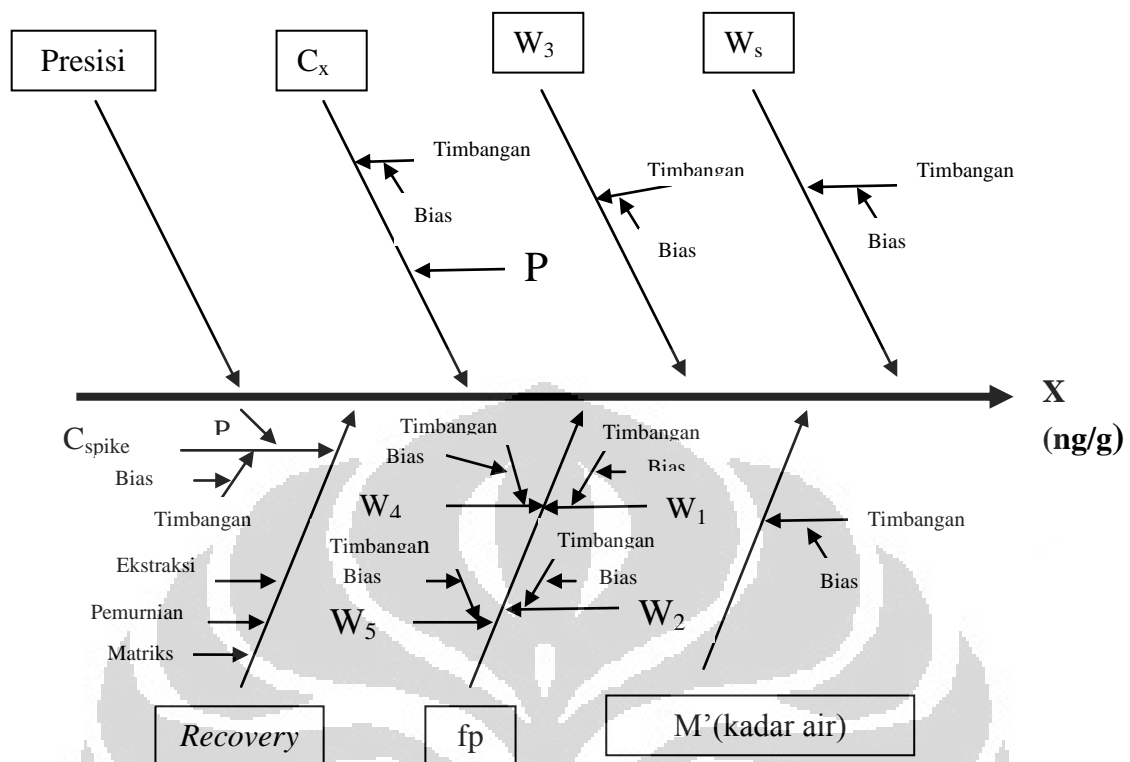
$$X = \frac{C_x \cdot W_3}{W_s} \times \text{Recovery} \times M \times \frac{1}{\text{Rec}} \dots\dots\dots (4.15)$$

Ketidakpastian standar gabungan dihitung dengan persamaan:

$$u_X = X \sqrt{\frac{u(C_x)^2}{(C_x)^2} + \frac{u(W_3)^2}{(W_3)^2} + \frac{u(W_s)^2}{(W_s)^2} + \frac{u(df)^2}{(df)^2} + \frac{u(M)^2}{(M)^2} + \frac{u(\text{Rec})^2}{(\text{Rec})^2} + \frac{u(\text{Repx})^2}{(\text{Repx})^2} \dots\dots (4.16)$$

**Tabel 4.22 Sumber-sumber ketidakpastian pada hasil analisis sampel uji homogenitas**

Simbol	Definisi	Unit
X	Konsentrasi analit di dalam sampel (basis kering)	ng/g
C <sub>x</sub>	Konsentrasi analit pada larutan yang diukur	ng/g
W <sub>1</sub>	Berat larutan setelah penambahan 10 mL n-heksan	g
W <sub>2</sub>	Berat larutan sampel yang diambil untuk clean-up (3 mL)	g
W <sub>3</sub>	Berat larutan akhir dalam 1 mL n-heksan	g
W <sub>5</sub>	Berat 900 µL n-heksan+100 µL hasil ekstrak	g
W <sub>4</sub>	Berat 100 µL hasil ekstrak yang diencerkan	g
Rec	Recovery metoda analisa	%
M	Kadar air dalam sampel	%
Repx	Presisi metoda analisa	-



**Gambar 4.13. Diagram *fish bone* komponen ketidakpastian**

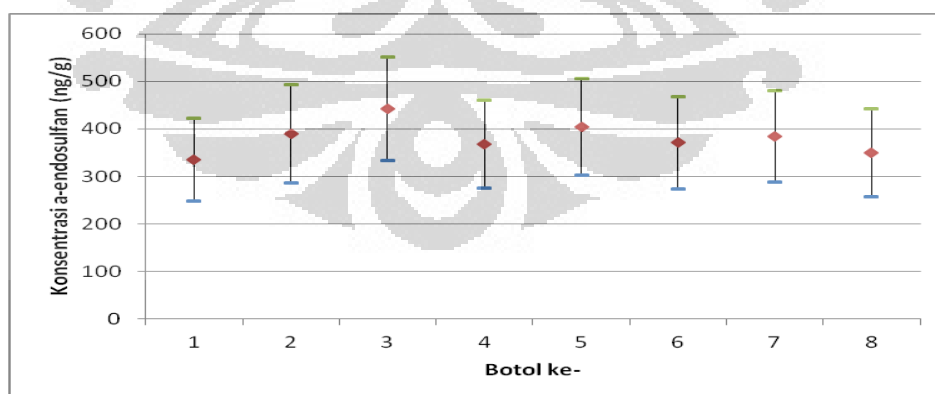
Ringkasan hasil perhitungan nilai ketidakpastian untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan diperlihatkan pada Tabel 4.23. Pada metoda analisis yang digunakan, dicoba dilakukan kuantitasi nilai konsentrasi senyawa  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada GC-ECD menggunakan kalibrasi satu titik (*one level calibration*). Hal tersebut dilakukan karena kalibrasi satu titik diperkenankan dalam analisa residu pestisida selama dapat dipastikan linieritas respon detektor baik pada rentang konsentrasi yang diinjeksikan. Menurut literatur dikatakan bahwa kuantitasi dengan kalibrasi satu titik dapat memberikan hasil yang lebih akurat terutama bila respon detektor variatif dari waktu ke waktu (Dokumen Uni Eropa, 2009 ). Hal tersebut dicoba dilakukan sekaligus untuk membandingkan apakah nilai ketidakpastian yang diperoleh akan menjadi lebih kecil dibandingkan dengan kuantitasi menggunakan kurva kalibrasi, karena dari hasil perhitungan metoda sebelumnya, ketidakpastian asal kurva kalibrasi (untuk menghitung komponen  $C_x$ ) memberikan sumbangan nilai ketidakpastian yang cukup besar.

**Tabel 4.23 Ringkasan nilai ketidakpastian untuk senyawa  $\alpha$ -endosulfan  
Pada uji homogenitas**

Parameter	Nilai (x)	Ketidakpastian standar, $u(x)$	Ketidakpastian standar relatif, %
X	370,6114	48,92	13,20
$C_x$	13,92	0,9851	7,08
$W_3$	1,02	0,000141	0,014
$W_s$	2,0850	0,000141	0,0068
$F_p$	40	0,00298	0,00745
Rec	0,7734	0,0609	7,87
M	1,064	0,00102	0,00959
Repx	1	0,0787	7,87

Nilai ketidakpastian standar relatif dari parameter  $C_x$  yang ditentukan melalui kalibrasi satu titik ternyata lebih rendah (7,08 %) dibandingkan dengan nilai ketidakpastian standar relatif  $C_x$  yang ditentukan dengan kurva kalibrasi yang terdiri dari beberapa titik (14,58 %).

Hasil analisis senyawa  $\alpha$ -endosulfan pada uji homogenitas diperlihatkan pada Gambar 4.14. Dari gambar tersebut tampak bahwa hasil dari ke 8 botol yang dianalisis overlap satu dengan yang lainnya sehingga dapat dikatakan bahwa sampel yang dianalisis adalah homogen.



**Gambar 4.14 Hasil uji homogenitas senyawa  $\alpha$ -endosulfan  
pada kandidat bahan acuan**

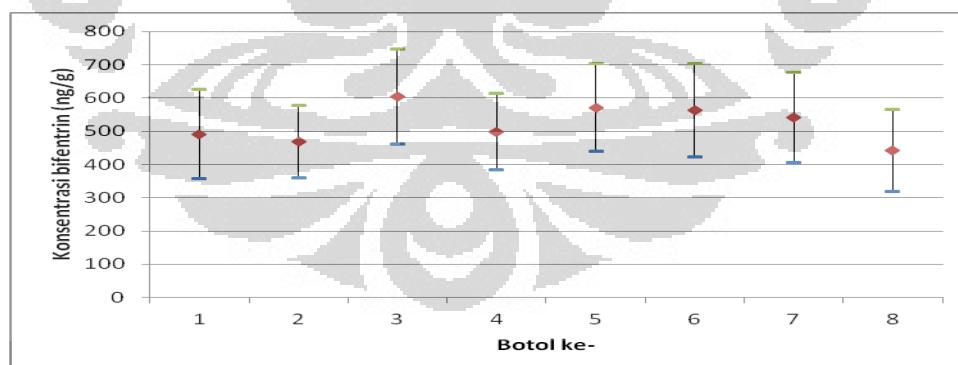


Ringkasan hasil perhitungan nilai ketidakpastian untuk senyawa bifentrin diperlihatkan pada Tabel 4.24.

**Tabel 4.24 Ringkasan nilai ketidakpastian untuk senyawa bifentrin Pada uji homogenitas**

Parameter	Nilai (x)	Ketidakpastian standar, $u(x)$	Ketidakpastian standar relatif, %
X	541,069	67,946	12,56
$C_x$	25,95	1,908	7,35
$W_3$	1	0,000141	0,0141
$W_s$	2,0674	0,000141	0,00682
$F_p$	40	0,00296	0,0074
Rec	0,9618	0,0692	7,19
M	1,064	0,00102	0,09586
Repx	1	0,0720	7,20

Hasil analisis senyawa bifentrin pada uji homogenitas diperlihatkan pada Gambar 4.15. Dari gambar tersebut tampak bahwa hasil dari ke 8 botol yang dianalisis overlap satu dengan yang lainnya sehingga dapat dikatakan bahwa sampel yang dianalisis adalah homogen.



**Gambar 4.15 Hasil uji homogenitas senyawa bifentrin pada kandidat bahan acuan**

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

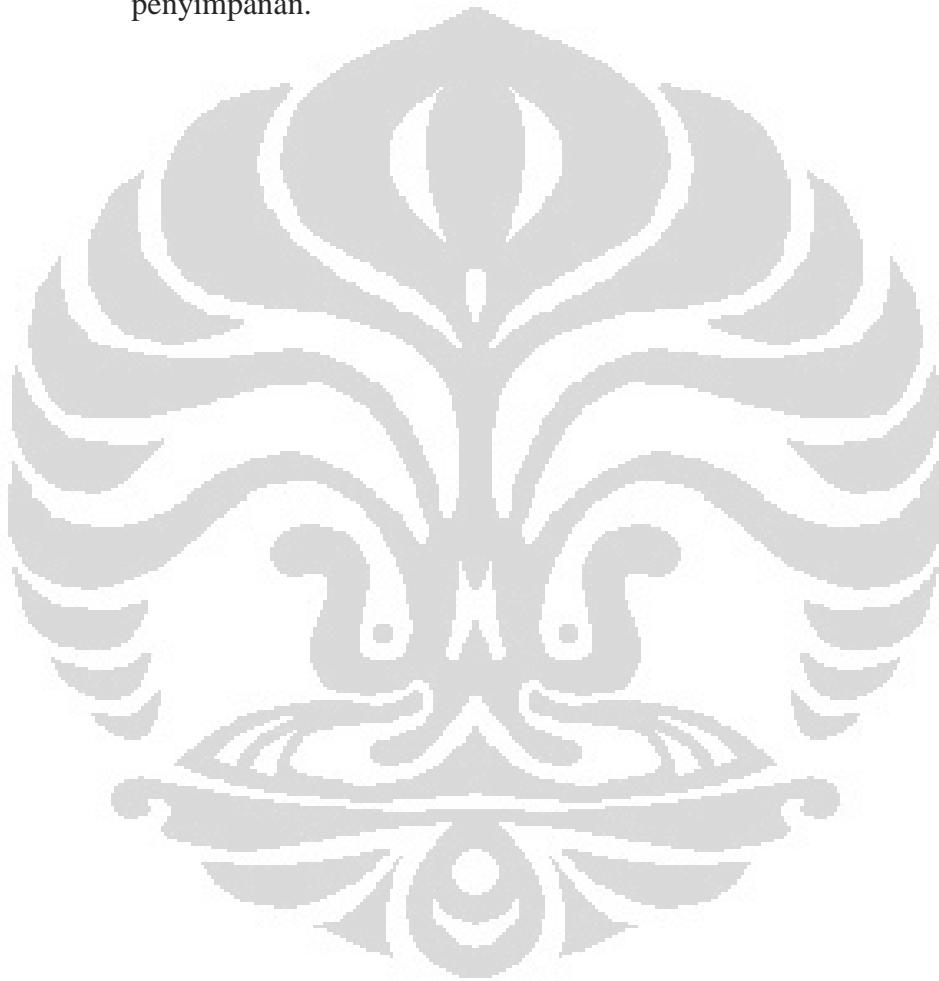
#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Telah berhasil dilakukan modifikasi metoda Metoda Analisis Multiresidu Pesticida Organoklorin dan Piretroid pada Matriks tak Berlemak (Bumbu dan Rempah), sehingga dapat digunakan dengan baik untuk penentuan  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin pada matriks teh. Metoda analisis yang dimodifikasi memiliki nilai perolehan kembali dan presisi yang cukup baik untuk kedua analit target. Adapun nilai perolehan kembali untuk  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing adalah sebesar 77,34 % dan 96,18 % sedangkan presisi metoda yang ditunjukkan dengan nilai %RSD untuk  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing adalah sebesar 17,61 % dan 16,09 % dimana nilai keduanya lebih kecil dari 20% dan nilai CV Horwitz.
2. Dalam penyiapan bahan acuan, pelarut non polar n-heksan dapat digunakan dengan baik untuk merendam teh dengan larutan standar pada proses spiking, karena sifatnya yang dapat membasahi teh, bisa melarutkan analit target dengan baik dan tidak terlalu kuat mengekstrak matriks teh yang dispiking.
3. Dalam skala berat 1 Kg Bahan acuan yang diperoleh memiliki nilai kadar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin masing-masing sebesar 380,32 ng/g dan 522,74 ng/g per berat kering dan nilai kadar air kandidat bahan acuan sebesar 5,99 %.
4. Berdasarkan uji homogenitas, disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar  $\alpha$ -endosulfan dan bifentrin yang signifikan diantara 8 botol sampel yang diuji, dengan demikian dapat dikatakan kandidat bahan acuan yang dibuat homogen.

## 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penetapan nilai kandidat bahan acuan dan uji banding antar laboratorium untuk mengevaluasi nilai bahan acuan yang ditetapkan.
2. Perlu dilakukan uji stabilitas jangka panjang untuk mengetahui kestabilan analit dalam matriks teh pada beberapa kondisi penyimpanan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aromatica Fine Tea "The Benefit of Offering Artisan Teas"*. (November 2008).  
[http://www.myaromatica.com/quality\\_control/What%20Are%20You%20Drinking.pdf](http://www.myaromatica.com/quality_control/What%20Are%20You%20Drinking.pdf)
- Alan J.H. (1999). *Extraction Methods in Organic Analysis*. Sheffield Academic Press. England.
- BAM Federal Institute of Material Research and Testing. (2009). *Certification report, ERM-CC007a: Organochlorine Pesticide in Soil, Division BAM-1.2: "Organic Analytical Chemistry; Reference materials"*, Germany.
- Bieve, P.D. and Taylor, P.D-P. (1997). *Traceability to the SI of Amount of Substance Measurement from Ignoring to Realizing a Chemist's View*. Metrologia. vol. 34, number 1, Bureau International des poids et Mesures.
- BIPM in Proceedings of the fourth meeting of CCQM. (1998). Bureau International des Poids et Mesures (BIPM). p.71. Paris, France.
- Bulska, E. and Taylor, P.D.P. (2003). *Do We Need Education in Metrology in Chemistry?*. Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol. 377 No. 4.
- Bulska, E. and Taylor, P.D.P. Chapter 4 On *The Importance of Metrology in Chemistry*,  
[www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf](http://www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM.../chapter4.pdf)
- Certified Reference Material*.  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Certified\\_reference\\_materials](http://en.wikipedia.org/wiki/Certified_reference_materials)
- Day R.A. dan Underwood, A.L., 1996
- Dini, J.R., Masalah dan Pengelolaan Residu Pestisida pada Teh. Pusat Penelitian teh dan Kina.
- Diratpahgar. (Juni 2008). *Apa Dan Bagaimana Keberlanjutan Sistem Produksi Teh Itu?*  
[http://ditjenbun.deptan.go.id/rempahbun/rempah//index.php?cucoaction=Array&option=com\\_content&task=view&id=102&Itemid=26&date=2009-02-01](http://ditjenbun.deptan.go.id/rempahbun/rempah//index.php?cucoaction=Array&option=com_content&task=view&id=102&Itemid=26&date=2009-02-01)
- Dokumen Uni Eropa. (2009). *Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed*. Document No. SANCO/10684/2009.
- Endosulfan*.  
<http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/endosulf.htm>
- Eurachem. (April, 2000). *Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*,  
<http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/process.html>
- Eurachem Guide. (1998). *The Fitness for Purpose of Analytical Method*.
- European co-operation for accreditation. (2003). *The selection and use of reference material*.  
[www.european-accreditation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf](http://www.european-accreditation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf).
- European Tea Committee. (2005). *Code of Practice-Pesticides Residue in Tea*.  
[www.etc-online.org/](http://www.etc-online.org/)

- Extention Toxicology Network. (1995). *Pesticide Information Profile of Bifenthrin*.  
<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/bifenthrin-ext.html>
- FAO. (2010). *Evaluation of Bifenthrin*.  
[http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/Specs/bifenthrin\\_Eva\\_only\\_2010.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/bifenthrin_Eva_only_2010.pdf)
- Fitri D. (2010). *Bahan Acuan (Reference Material) dalam Metrologi*, Warta Kimia Analitik, No.18 tahun XV.
- International Atomic Energy Agency. (April, 2003). *Development and Use of Reference Materials and Quality Control Materials*. Vienna, Austria.
- Inchem. (1975). Data sheets on pesticide No. 15 Endosulfan.  
<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim576.htm#PartTitle:3>  
. PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES
- International Atomic Energy Agency. (2003). *Development and use of Reference Materials and Quality Control Materials*, Vienna, 2003.
- ISO. 1995. *Guide to the expression of Uncertainty in Measurement*. International Standard Organization. Geneva.
- ISO. *International Vocabulary of Basic and General terms in Metrology*. (2008). Switzerland.
- ISO/IEC 17025 (Versi Bahasa Indonesia). (2005). *Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi*. Edisi kedua.
- ISO Guide 34. (2000). *General requirements for the competence of reference material producers*. Edisi ke dua.
- ISO Guide 35. (2006). *Reference materials – General and statistical principles for certification*. Edisi ke tiga.
- JCGM. (2008). *International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and associated Terms (VIM)*.
- Komoditi teh di Indonesia*, 15 Januari 2008.  
<http://www.csrreview-online.com/lihatartikel.php?id=24>
- Kustanti, V.R. & Widiyanti, T.(2007). *Research on the supply chain in Indonesia*. Business Watch Indonesia.
- Lin Zhu-Guang, et.al. (2005). *Multiresidue Determination of 17 Organochlorine and Pyrethroid Pesticides in Tea by Gas Chromatography-Negative Chemical Ionization-Mass Spectrometry*. Chemical Journal of Chinese Universities, 2005, V26(12): 2218-2222,2190.
- Melawan serangan Hama teh Secara Alami,  
[http://www.pn8.co.id/pn8/index.php?option=com\\_content&task=view&id=353&Itemid=2](http://www.pn8.co.id/pn8/index.php?option=com_content&task=view&id=353&Itemid=2)
- Muaksang, K. (2009). *Development of Reference Methods and Refrence Materials for Trace Level Antibiotic residues in Food Using IDMS*, Tesis UNSW, Australia.
- Metoda Pengujian Residu Pestisida Dalam Hasil Pertanian. (2006). Direktorat Jenderal Tanaman Pangan Direktorat Perlindungan Tanaman.
- Muraleedharan, N., (1994). *Pesticide Residues in Tea : Problems and Perspectives*. *Planter's Chronicle*-September 1994:371-375.

- Muraleedharan, N., Selvasundaram R., dan Manikandan, K.N., (2001). *Pesticide Residues in Tea : The Present Scenario. Planter's Chronicle*-July 2001:279-285.
- Pambudi, J. (2006). *Potensi Teh Sebagai Sumber Zat Gizi dan Perannya dalam Kesehatan*, lembaga Riset Perkebunana Indonesia.  
[http://www.ipard.com/art\\_perkebun/Jul04-06\\_jp.asp](http://www.ipard.com/art_perkebun/Jul04-06_jp.asp)
- Paul A., dan Rod M. (2000). *Storage Stability of Organochlorine, Organophosphorous and Synthetic Pyrethroid Pesticides in Frozen Homogenized Tomato*, Quality Assurance Study Report Series, AGAL, Australia.
- Paul A., dan Roderick M., A. (2001). *Natural Matrix (pureed tomato) Candidate Reference Material Containing Residue Concentrations of Pesticide Chemicals*, Fresenius J Anal Chem, 370: 291-296.
- Peraturan Pemerintah RI No. 6 Tahun 1995 tentang Perlindungan tanaman dan keputusan bersama menteri kesehatan dan menteri pertanian tentang Batas maksimum Residu Pestisida pada hasil Pertanian.
- Philips, K.M. et.al. (2007). Accred Qual Assurance, (12) 126-133.
- Richter, W. (1997). *Primary Methods of Measurements in Chemical Analysis. Accreditation and Quality Assurance: Journal for Quality, Comparability, and Reliability in Chemical Measurement*, 2, (8), 354-359.
- Rohayati, S. (2005). *Indonesian tea Export Competitiveness in the World's Tea Market*. Jurnal Agro Ekonomi, Vol. 23 No. 1. 1-29.
- Sanne van Der Wal. (2008). *Sustainability Issues in the Tea Sector " A Comparative Analysis of Six Leading Producing Countries "*. Stichting Onderzoek Multinationale Ondernemingen (SOMO). Amsterdam.
- Skoog, D.A. (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. Edisi ke 5.
- Sumardi. (2009). *Ketertelusuran Pengukuran dan Validasi Metoda Analisis Kimia Menunjang Penerapan ISO / IEC 17025; 2005*, RCCChem Learning Center- Pusat Penelitian Kimia LIPI.
- Susanto, Y. (2010). *Estimasi ketidakpastian dalam Pengukuran/Pengujian Kimia*, Warta Kimia Analitik, No.18 tahun X.
- Tanaman Obat Indonesia. Diunduh dari  
[http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?mnu=2&id=159](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=159)
- Tang H., dan Feng L., (2009), *Preparation of Sample 2 for APMP P-15*, Disampaikan pada pertemuan APMP, Kuala Lumpur 11-19 Desember 2009.
- Test Tea*.  
<http://www.choice.com.au>
- Xin Y., et.al. (2009). *Simultaneous Determination of 118 Pesticide Residues in Chinese Tea by Gas Chromatography Mass Spectrometry*, Chemical Papers, Vol. 63, Number 1, 39-46, DOI:10.2478/s11696-008-0090-3.
- Yiu C. W., et.al. (2008). *Preparation of Reference Material for Organochlorine Pesticides in Herbal Matrix*, Anal Bioanal Chem, 392: 1507-1513.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Uji Profisiensi yang diselenggarakan oleh *Asia Pasific Metrology Program (APMP)*

**Table 1: Sample types and the pesticides used for the study**

Sample	Matrix	Pesticides
Sample 1	Green tea	cypermethrin
Sample 2	Oolong tea	$\alpha$ - endosulfan
		$\beta$ - endosulfan
		bifenthrin

**Table 2: Assigned values of the pesticides**

	Assigned value (ng/g)	Uncertainty (ng/g)
<b>Sample 1 (Green tea)</b>		
cypermethrin	141	16
<b>Sample 2 (Oolong tea)</b>		
$\alpha$ - endosulfan	34.2	4.6
$\beta$ - endosulfan	49.9	7.1
bifenthrin	856	100

Table 6: Results of  $\alpha$  - endosulfan analysis in Sample 2

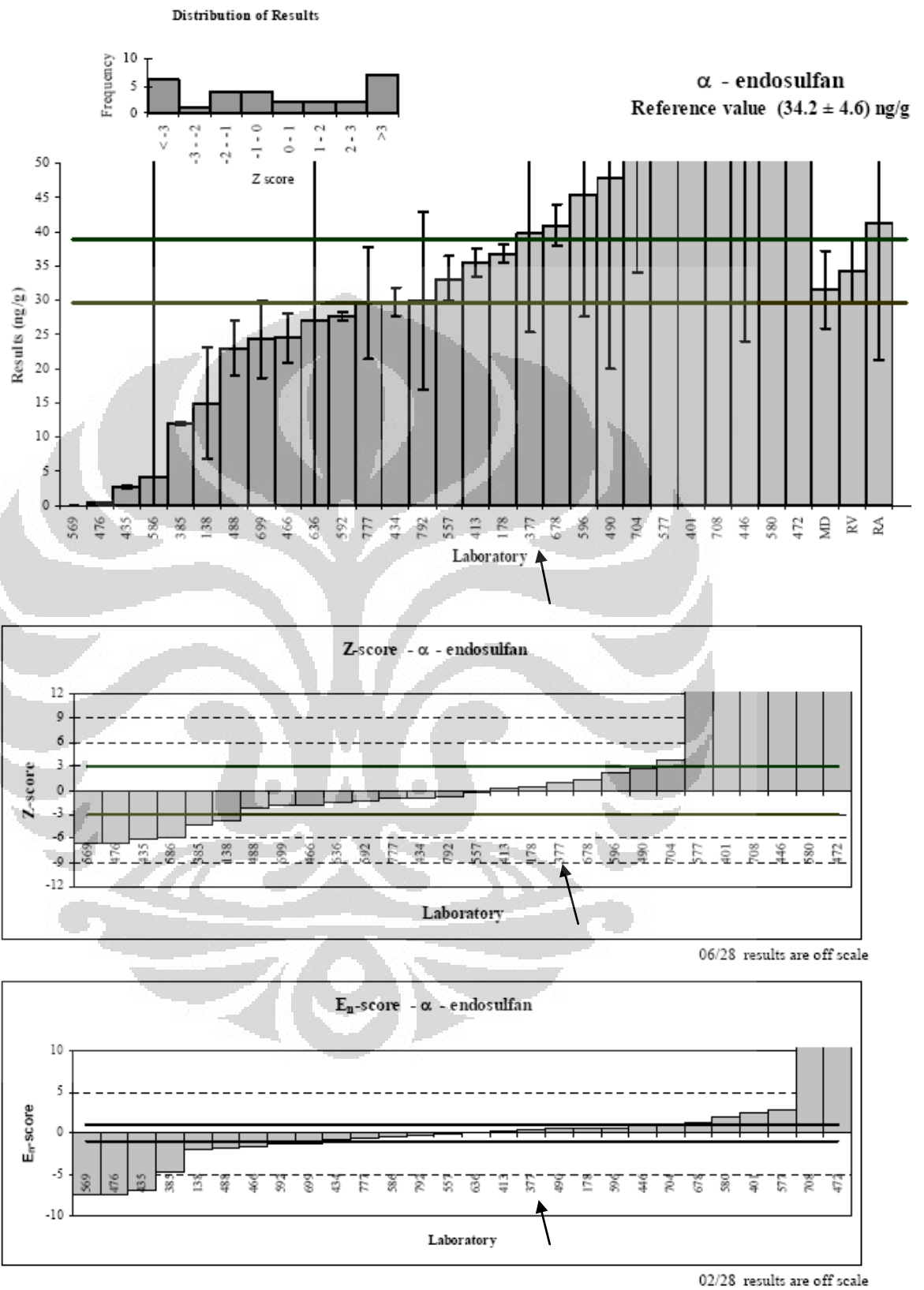
Details of the sample		Sample statistics		
Sample No.	2	Sample No.	Concentration (ng/g)	Uncertainty (ng/g)
Matrix	Oolong tea	Reference Value	34.2	4.6
Analyte	$\alpha$ - endosulfan	Robust Average	41.3	20.0
Units	ng/g	Median	31.6	5.7
		Mean	932.5	
		Max	24178.23	
		Min	0.01	

Participant results (Concentration given as the mean of replicate results)

Lab code	Concentration (ng/g)	Uncertainty (ng/g)	Z-score	$E_n$ -score
138	15	8.2	-3.74 §	-2.04 *
178	36.8	1.3	0.51	0.54
210	NR		NR	
338	NR		NR	
377	39.78	14.50	1.09	0.37
385	12.00	0.161	-4.33 §	-4.82 *
401	171	54	26.67 §	2.52 *
413	35.6	2.0	0.27	0.28
434	29.8	2.1	-0.86	-0.87
435	2.751	0.154	-6.13 §	-6.83 *
446	254	230	42.85 §	0.96
466	24.58	3.59	-1.88	-1.65 *
472	24178.23	311.82	4706.44 §	77.42 *
476	0.32	0.0112	-6.60 §	-7.37 *
488	23	3.994	-2.18	-1.84 *
490	48	28	2.69	0.49
512	NR	NR	NR	NR
557	33.2	3.22	-0.19	-0.18
569	0.01	0.002	-6.66 §	-7.43 *
577	111.26	26.60	15.02 §	2.85 *
580	616.36	306.8	113.48 §	1.90 *
586	4.2	62.48	-5.85 §	-0.48
592	27.71	0.667	-1.27	-1.40 *
596	45.34	17.68	2.17	0.61
636	27	880	-1.40	-0.01
678	41.0	3.1	1.33	1.23 *
699	24.4	5.62	-1.91	-1.35 *
704	53	19	3.66 §	0.96
708	196.95	7.5110	31.73 §	18.48 *
777	29.6	8.13	-0.90	-0.49
792	30.0	12.9	-0.82	-0.31
873	NR	-	NR	-

Note: NR - Not Reported § - Denotes an outlier (i.e.  $|Z - \text{score}| > 3$ ) \* -  $|E_n| > 1$  questionable





**Figure 3: Graphical representations of results of  $\alpha$  - endosulfan analysis in Sample 2**  
Majority of participant results (79%) observed for  $\alpha$  - endosulfan falls within an Z score of +4 to -4.

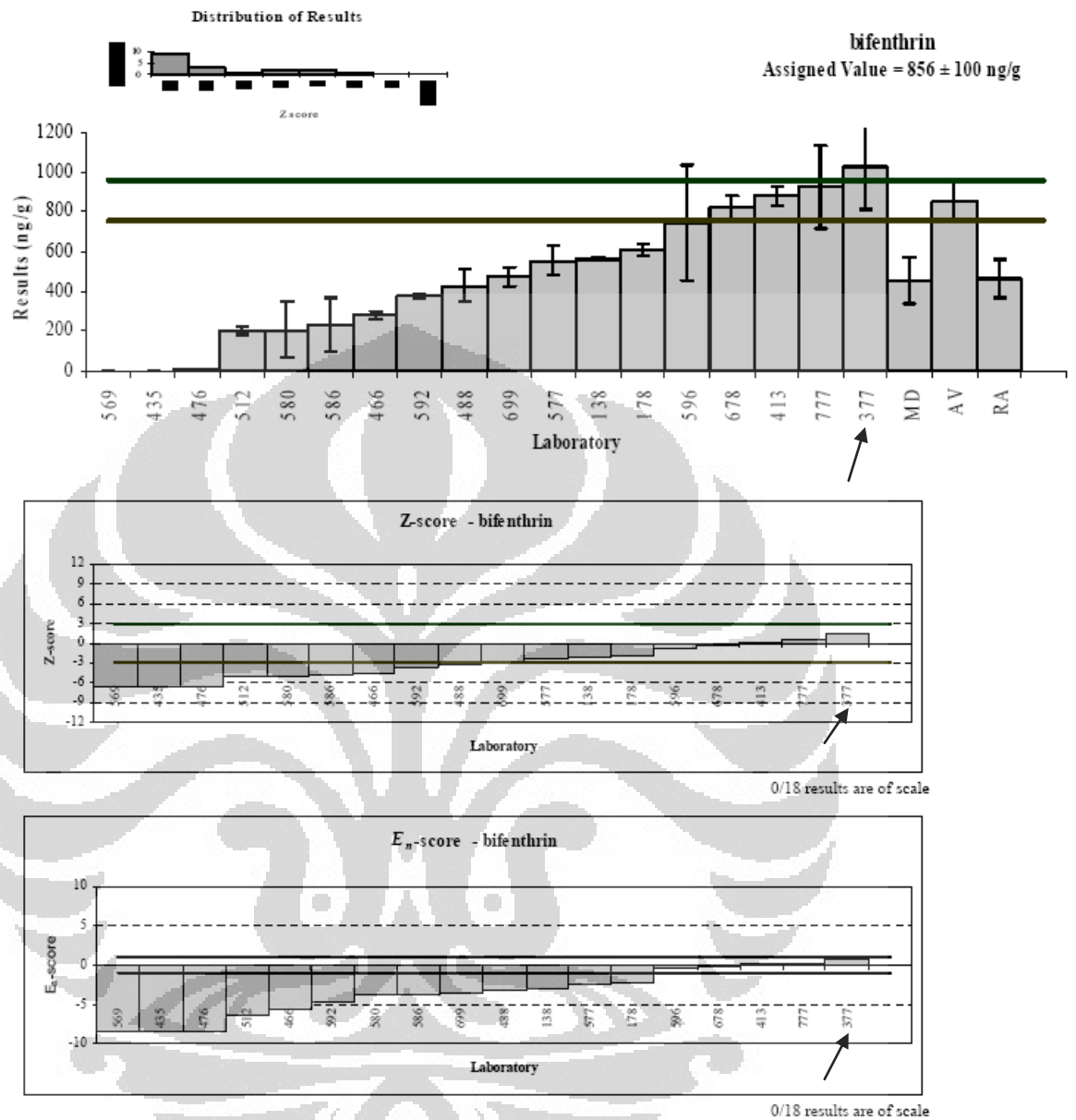
Table 8: Results of bifenthrin analysis in Sample 2

Details of the sample		Sample statistics		
Sample No.	2	Sample No.	Concentration (ng/g)	Uncertainty (ng/g)
Matrix	Oolong tea	Assigned Value	856	100
Analyte	bifenthrin	Robust Average	4623	94.2
Units	ng/g	Median	452	116
		Mean	463.38	
		Max	1028.99	
		Min	0.07	

Participant results (Concentration given as the mean of replicate results)

Lab code	Concentration (ng/g)	Uncertainty (ng/g)	Z-score	$E_n$ -score
138	564	6.6	-2.3	-2.91 *
178	608.3	31.2	-1.9	-2.37 *
210	NR		NR	
338	NR		NR	
377	1028.99	214.88	1.3	0.73
385	NR		NR	
401	NR		NR	
413	879.1	50.9	0.2	0.20
434	NR		NR	
435	0.966	0.404	-6.7 §	-8.55 *
446	NR		NR	
466	278.31	19.62	-4.5 §	-5.67 *
472	NR		NR	
476	5.0	0.046	-6.6 §	-8.51 *
488	430	85.14	-3.3 §	-3.24 *
490	NR		NR	
512	207	20	-5.01 §	-6.36 *
557	NR		NR	
569	0.07	0.01	-6.7 §	-8.55 *
577	554.21	72.75	-2.4	-2.44 *
580	207.86	140.74	-5.0 §	-3.76 *
586	228.2	135.32	-4.9 §	-3.73 *
592	375.73	9.192	-3.7 §	-4.78 *
596	748.00	291.72	-0.8	-0.35
636	NR		NR	
678	827	58	-0.2	-0.25
699	473.6	47.16	-3.0	-3.46 *
704	NR		NR	
708	NR		NR	
777	924.44	206.03	0.5	0.30
792	NR		NR	
873	NR		NR	

Note: NR - Not Reported § - Denotes an outlier (i.e.  $|Z - \text{score}| > 3$ ) \* -  $|E_n| > 1$  questionable



**Figure 5: Graphical representations of results of bifenthrin analysis in Sample 2**

Most of the reported results are lower than the assigned value of bifenthrin. These low results possibly be due to inefficient extraction of bifenthrin, low recovery during clean up or overestimation of purity of standard.

## Lampiran 2. Perhitungan ANOVA untuk Uji Homogenitas

### 1. Senyawa $\alpha$ -endosulfan

No. Botol	a-endosulfan (ng/g) pada ulangan ke-			Total ( $\Sigma xi$ )	rata-rata	sd (s)	variansi ( $s^2$ )
	1	2	3				
2	299,6883	394,7012	310,1751	1004,5646	334,8549	52,0930	2713,6818
26	339,6941	584,1336	245,6954	1169,5231	389,841	174,7030	30521,1333
27	364,4964	647,0960	315,2475	1326,8398	442,2799	179,0770	32068,5725
32	386,7077	440,9602	<b>275,5477</b>	1103,2156	367,7385	84,3220	7110,1983
41	427,6100	380,9805	402,6311	1211,2216	403,7405	23,3345	544,4995
36	394,7682	382,3232	334,7429	1111,8343	370,6114	31,6802	1003,6349
38	356,9353	474,2532	322,7490	1153,9374	384,6458	79,4625	6314,2836
18	400,0827	371,6887	274,9024	1046,6739	348,8913	65,6302	4307,3179
				9127,8104	380,3254		

Ingin mengetahui apakah ada ketidakhomogenan

$$H_0 : S^2_{within} = S^2_{between}$$

$$H_1 : S^2_{within} \neq S^2_{between}$$

Nilai  $\alpha$ : 0,05

Total data (N) :  $8 \times 3 = 24$

Nilai faktor koreksi:

$$(9127,8104)^2/24 = 3471538,5$$

SST (Sum Square Total)

$$SST = \sum X^2 - \frac{(\sum X_{total})^2}{N}$$

$$\begin{aligned} \sum X^2 = & (299,6883)^2 + (394,7012)^2 + (310,1751)^2 + (339,6941)^2 + (584,1336)^2 + (245,6954)^2 + (364,4964)^2 + (647,0960)^2 + (315,2475)^2 + \\ & (386,7077)^2 + (440,9602)^2 + (275,5477)^2 + (427,6100)^2 + (380,9805)^2 + (402,6311)^2 + (394,7682)^2 + (382,3232)^2 + \\ & (334,7429)^2 + (356,9353)^2 + (474,2532)^2 + (322,7490)^2 + (400,0827)^2 + (371,6887)^2 + (274,9024)^2 \end{aligned}$$

$$\sum X^2 = 3664118,0288$$

$$SST = 3664118,0288 - 3471538,5 = 192579,5288$$

**SSF (Sum Square Factor) / between groups**

$$SSF = \frac{(\sum X_1)^2}{n_1} + \frac{(\sum X_2)^2}{n_2} + \frac{(\sum X_3)^2}{n_3} + \frac{(\sum X_4)^2}{n_4} - \frac{(\sum X_{tot})^2}{N}$$

$$SSF = (1156,6626^2/3) + (1346,5970^2/3) + (1527,7325^2/3) + (1343,7715^2/3) + (1394,6089^2/3) + (1280,1737^2/3) + (1328,6515^2/3) + (1205,1486^2/3) - 4666967,4$$

$$= 23412,92942$$

**SSE (Sum Square Error)/within groups**

$$SSE = SST - SSF$$

$$SSE = 169166,6434$$

**Nilai derajat bebas (df)**

Faktor botol	= 8-1	7
Error	= 8(3-1)	16
Total	= (8*3)-1	23

**Tabel ANOVA**

Sumber variasi	df	SS	Mean SS
Faktor (between)	7	23412,93	3344,704203
Error (within)	16	169166,6434	10572,91521
Total	23	192579,57	

**Uji signifikan (F-test)**

Nilai F tabel untuk  $\alpha=0,05$  pada  $f_1=7$  dan  $f_2=16$  adalah 2,6572

Nilai  $F_{hitung}$  adalah

$$3344,704203/10572,91521 = 0,316346451$$

Karena nilai  $F_{hitung} < F_{tabel}$  maka  $H_0$  diterima  
sehingga dapat disimpulkan bahwa bahan acuan a-endosulfan homogen

## 2. Senyawa Bifentrin

Bifentrin (ng/g) pada ulangan ke-							
No. Botol	1	2	3	Total ( $\Sigma Xi$ )	rata-rata	sd (s)	variansi ( $s^2$ )
2	421,2978	596,0048	457,7202	1475,0228	491,6743	92,169942	8495,298159
26	476,5388	581,4089	349,8760	1407,8237	469,2746	115,93723	13441,44082
27	685,4857	576,3610	552,4315	1814,2782	604,7594	70,927482	5030,707686
32	508,5241	515,1074	472,8328	1496,4643	498,8214	22,746228	517,3909061
41	663,8583	510,1027	540,3807	1714,3417	571,4472	81,449659	6634,046953
36	591,9603	566,1613	531,3151	1689,4368	563,1456	30,434866	926,2810908
38	450,0815	619,7120	553,4127	1623,2062	541,0687	85,486274	7307,902983
18	470,4897	409,9915	444,5904	1325,0716	441,6905	30,353188	921,3160379
				<b>12545,6453</b>	<b>522,7352</b>		

Ingin mengetahui apakah ada ketidakhomogenan

$$H_0: S^2_{within} = S^2_{between}$$

$$H_1: S^2_{within} \neq S^2_{between}$$

Nilai  $\alpha$ : 0,05

Total data (N) :  $8 \times 3 = 24$

Nilai faktor koreksi:  $(12545,6453)^2/24 = 6558050,6$

**SST (Sum Square Total)**

$$SST = \sum X^2 - \frac{(\sum X_{total})^2}{N}$$

$$\sum X^2 = 6710698,0577$$

$$SST = 6710698,0577 - 6558050,6 = \mathbf{152647,4099}$$

**SSF (Sum Square Factor) / between groups**

$$SSF = \frac{(\sum X_1)^2}{n_1} + \frac{(\sum X_2)^2}{n_2} + \frac{(\sum X_3)^2}{n_3} + \frac{(\sum X_4)^2}{n_4} - \frac{(\sum X_{tot})^2}{N}$$

**SSE (Sum Square Error)/within groups**

$$SSE = SST - SSF$$

$$SSE = 86548,7693$$

**Nilai derajat bebas (df)**

Faktor botol	=8-1	7
Error	=8(3-1)	16
Total	=(8*3)-1	23

**Tabel ANOVA**

Sumber variasi	df	SS	Mean SS
Faktor (between)	7	66098,64	9442,662943
Error (within)	16	86548,7693	5409,298081
Total	23	152647,41	

**Uji signifikan (F-test)**

Nilai F tabel untuk  $\alpha=0,05$  pada  $f_1=7$  dan  $f_2=16$  adalah 2,6572

Nilai  $F_{hitung}$  adalah

$$9442,662943/5409,298081= \mathbf{1,745635534}$$

Karena nilai  $F_{hitung} < F_{tabel}$  maka  $H_0$  diterima  
sehingga dapat disimpulkan bahwa bahan acuan bifentrin homogen

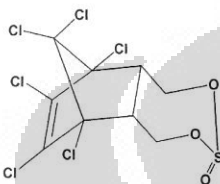
### Lampiran 3. Sertifikat Hasil Analisis Bahan Acuan $\alpha$ -Endosulfan



Australian Government  
National Measurement Institute

#### REFERENCE MATERIAL ANALYSIS REPORT

Compound Name: **Endosulfan (alpha)** Description: White crystals  
Collection No.: P1368 Batch No. 96-104172  
Chemical Formula:  $C_9H_6Cl_6O_3S$  Molecular Weight: 406.9  
CAS Registry No: 959-98-8 Batch production completed: September 1996  
Structure:



Synonyms: Endosulfan (I);  
 $\alpha$ -1,4,5,6,7,7-Hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en-2,3-ylene dimethylsulfite

Purity (mass fraction %): 99% minimum

GC-FID: Instrument: HP6890  
Column: HP-1, 29.85 m  $\times$  0.32 mm I.D.  $\times$  0.25  $\mu$ m  
Program: 180  $^{\circ}$ C (1 min), 10  $^{\circ}$ C/min to 260  $^{\circ}$ C (1 min), 40  $^{\circ}$ C/min to 300  $^{\circ}$ C (1 min)  
Injector: 230  $^{\circ}$ C Detector Temp: 320  $^{\circ}$ C  
Carrier: Helium Split ratio: 20/1  
Relative peak area response of main component:  
Initial analysis: Mean = 99.8%, s = 0.02 (3 sub samples in duplicate, October 2001)  
Current re-analysis: Mean = 99.7%, s = 0.1 (5 sub samples in duplicate, February 2007)

GC-MS: Matches literature reference spectra.  
Instrument HP5890/5970B. Ionisation: EI / 70 eV.  
Column: HP Ultra-2, 12 m  $\times$  0.22 mm ID. Film thickness 0.1  $\mu$ m  
Temp Program: 70  $^{\circ}$ C to 300  $^{\circ}$ C at 10  $^{\circ}$ C/min.  
Injector Temp: 230  $^{\circ}$ C Transfer line temp: 280  $^{\circ}$ C  
Carrier gas: Helium 1mL/min Split 10/1.  
Scan Range: 40-450 amu

HPLC: Method: Peak area percentage of total, mean = 99.9%, s = 0.2% (3 samples)  
Column: Alltima C18 5  $\mu$ m (4.6 mm  $\times$  250 mm),  
Mobile Phase: Acetonitrile/water/ (80/20)  
Flow Rate: 1.0 ml/min  
Detector: Refractive Index.

TLC: Conditions: Kieselgel 60F<sub>254</sub>. Diisopropylether/diethylether/diethylamine (45/45/10)  
Single spot observed,  $R_f$  = 0.78.

IR: Instrument: FT-IR, Biorad WIN FTS40.  
Range: 4000-400  $cm^{-1}$ , KBr pellet.  
Peaks: 1605, 1271, 1194, 1006, 980, 859, 792, 754, 701, 674, 623, 582  $cm^{-1}$ .

Karl Fischer analysis: Moisture content 0.15% mass fraction (February 2007).

Melting point: 106-108  $^{\circ}$ C (uncorrected)

1 Suakin Street Pymble, NSW 2073 PO Box 385 Pymble NSW 2073 Tel: +61 2 9449 0111 Fax: +61 2 9449 1653 [www.measurement.gov.au](http://www.measurement.gov.au) ABN: 74 599 608 295

National Measurement Institute

Page 1 of 2



Expiration of certification: The property values are valid till 8<sup>th</sup> February 2012, i.e. five years from the date of certification, provided the material is handled and stored in accordance with the recommendations below. The material as issued in the unopened container and stored as recommended below should be suitable for use beyond this date, subject to confirmation of batch stability from the issuing body.

The long-term stability of the compound in solution has not been examined.

Recommended storage: At or below 4 °C in a closed container in a dry, dark area.

Intended Use: For *in vitro* laboratory analysis only.

**CAUTION:** **Treat as hazardous substance.**  
**Use appropriate personal protection and work practices when handling to avoid skin or eye contact, or inhalation of dust.**

**Legal Notice:** Neither NMI nor any person acting on NMI's behalf assumes any liability with respect to the use of, or for damages resulting from the use of, this reference material or the information contained in this certificate.

Authorised by:

*S. R. Davies*

Dr Stephen R. Davies,  
 Team Leader,  
 Chemical Reference Materials, NMI.  
 Dated: 1 February, 2008.

Report ID: P1368.2007.01

Characterisation data and certified property values specified in this report supersede those in all reports issued prior to 22<sup>nd</sup> February 2007.



This document is issued in accordance with NATA's accreditation requirements.  
 Accredited for compliance with ISO Guide 34.  
 This document shall not be reproduced except in full.  
 Accreditation Number 14221.

## Lampiran 4. Sertifikat Kalibrasi Neraca Analitik Mettler Toledo AT 20

Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia  
Pusat Penelitian Kalibrasi, Instrumentasi dan Metrologi  
Pengelola Teknis Ilmiah Standar Nasional untuk Satuan Ukuran

---

### SERTIFIKAT KALIBRASI CALIBRATION CERTIFICATE

**IDENTITAS ALAT**  
*Instrument Details*

Nama : Neraca Analitik  
 Merek Pabrik : - / Mettler Toledo  
 Tipe/Nomor/ Seri : AT 20 / 25B - IIB 9798  
 Lain-lain : Kapasitas : 22 gram

**IDENTITAS PEMILIK**  
*Owner Identification*

Nama : Pusat Penelitian Kimia  
 Alamat : Kawasan Puspiptek, Serpong - Tangerang

Sertifikat ini terdiri atas 3 halaman  
*This certificate comprises pages*

Diterbitkan tanggal 16 Januari 2009  
*Date of Issue*

PH. Kepala Bidang Metrologi  
  
 A. Praba Drijarkara, M.Eng  
 NIP. 320006308

S. 029154

Keputusan Presiden Republik Indonesia Nomor 79 Tahun 2001  
 tentang Komite Standar Nasional untuk Satuan Ukuran  
 Alamat : Pusat KIM-LIP, Komplek IPSPPTK, Serpong - Tangerang 15114  
 Telp. (021) 7500533, 7500534, 7500531 - 7500561 Fax. (021) 7500568 - 7500064  
 Website : <http://www.kim.lipi.go.id> e-mail : [humas@kim.lipi.go.id](mailto:humas@kim.lipi.go.id)

Dilarang keras mengutip, memperbanyak dan/atau mempublikasikan sebagian isi Sertifikat ini tanpa izin tertulis dari Pusat KIM-LIP.  
 Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Pusat KIM-LIP.

**PUSLIT KIM - LIPI**

**LIPI**

S. 029154  
No Order : D - 08.11.29  
Subbidang Kalibrasi Mekanik  
Lembar ke 2 dari 3 lembar

Nama Alat            Neraca Analitik  
kapasitas            22            gram  
Resolusi             0.00001    gram  
Tipe                    AT 20  
No. Seri               25B - IDB 9798  
Pabrik/Merk        -/Mettler Toledo

Kondisi Ruang  
Suhu                    25.2 °C  
Kelembaban           55 %

Tgl. Kalibrasi        24-Des-08  
Tempat Kalibrasi    Ruang Timbang  
                                 Puslit KIMIA - LIPI Serpong

**HASIL PENGUKURAN**

**1. Daya Ulang Pembacaan Timbangan**

Beban (gram)	Simpangan Baku (gram)
10	0.000007
20	0.000005

**2. Penyimpangan Penunjukkan Pembacaan**

Pembacaan (gram)	Koreksi (gram)	Ketidakpastian ± (gram)
2.0000	0.00000	
4.0000	-0.00050	
6.0000	0.00897	
8.0000	0.00897	
10.0000	0.00097	0.00003
12.0000	0.00098	
14.0000	0.00046	
16.0001	0.00995	
18.0000	0.00996	
20.0001	0.00744	

**3. Persamaan Regresi**

Massa suatu benda sebagai fungsi dari penunjukkan pembacaan timbangan ( x ) adalah :

$$m_i \text{ (gram)} = 0.000736995 + 1.000362045 \cdot x_i$$

Dimana :  $m_i$  (gram) = besarnya massa suatu benda ke-i dalam satuan gram  
 $x_i$  = Penunjukkan pembacaan timbangan ke-i


**4. Limit of Performance Timbangan :**

i = 0.01001 gram

Alamat : Puslit KIM-LIPI, Komplek FUSP PTEK, Serpong - Tangerang 15314  
Telp. (62-021) 7560533 - 7560534 - 7560535 - 7560538 - 7560562 - 7560571, 7560906 Fax: (62-021) - 7560568, 7560064 Telex 45512 PPII IA

\* Dilarang keras mengutip/memperbanyak dan/atau mempublikasikan sebagian isi Sertifikat ini tanpa seijin Puslit KIM-LIPI  
\* Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Puslit KIM-LIPI

FORM : P017/10-001

 **PUSLIT KIM - LIPI**

S. 029154  
No. Order : D - 08.11.29  
Lembar ke 3 dari 3 lembar

5. Efek Pembebanan Tidak di Pusat Pan :

Posisi	Pembacaan (gram)	Perbedaan Maksimum (gram)
Tengah	10.00006	0.00004
Depan	10.00008	
Kiri	10.00002	
Belakang	10.00002	
Kanan	10.00006	



6. Histerisi :

Beban (gram)	Histerisi (gram)
10	< 0.00001

Catatan :

1. Timbangan dikalibrasi berdasarkan prosedur kalibrasi - IK-BK-MS03 yang mengacu pada "The Calibration of Balance", DB Prowse -CSIRO-NML-Australia.
2. Standar yang digunakan adalah anak timbangan standar kelas E1 Nomor Seri 114850 yang tertelusur ke KIM LIPI dengan No. Sertifikat 73060.
3. Ketidakpastian pengukuran yang diberikan dalam sertifikat ini menggunakan basis distribusi normal dengan tingkat kepercayaan 95% dengan faktor cakupan  $k = 2$ .
4. Perhitungan ketidakpastian mengacu ke ISO "Guide to Expression of Uncertainty in Measurement".
5. Jika tanda koreksi positif (+), maka nilai tersebut ditambahkan pada pembacaan timbangan dan jika tanda koreksi negatif (-), maka pembacaan timbangan harus dikurangi dengan nilai tersebut.
6. LOP (*Limit of Performance*) timbangan adalah rentang toleransi dimana didalamnya terdapat kemungkinan semua pembacaan timbangan.
7. Maximum pengukuran hanya sampai 200 g, sesuai dengan petunjuk pemakaian pada timbangan.

==== Akhir dari Sertifikat ====

Alamat : Puslit KIM-LIPI, Kompleks PUSPIITEK, Serpong - Tangerang 15314  
Telp. (62-021) 7560533 - 7560534 - 7560535 - 7560538 - 7560562 - 7560571, 7560906 Fax. (62-021) - 7560568, 7560064 Telex 45512 PPIT IA

\* Dilarang keras mengutip/memperbanyak dan/atau mempublikasikan sebagian isi Sertifikat ini tanpa seijin Puslit KIM-LIPI  
\* Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Puslit KIM-LIPI

## Lampiran 5. Sertifikat Kalibrasi Neraca Analitik Mettler Toledo AT 200

Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia  
Pusat Penelitian Kalibrasi, Instrumentasi dan Metrologi  
Pengelola Teknis Ilmiah Standar Nasional untuk Satuan Ukuran

---

**SERTIFIKAT KALIBRASI**  
*CALIBRATION CERTIFICATE*

**IDENTITAS ALAT**  
*Instrument Details*

Nama : Neraca Analitik  
 Merek/Pabrik : - / Mettler Toledo  
 Tipe/Nomor Seri : AT 200 / 25C - IDB 9798  
 Lain-lain : Kapasitas : 220 gram

**IDENTITAS PEMILIK**  
*Owner Identification*

Nama : Pusat Penelitian Kimia  
 Alamat : Kawasan Puspiptek, Serpong - Tangerang

Sertifikat ini terdiri atas 3 halaman  
*This certificate comprises pages*

Diterbitkan tanggal 16 Januari 2009  
*Date of issue*

PH. Kepala Bidang Metrologi  
  
 A. Praba Drijarkara, M.Eng.  
 NIP. 320006308


S. 029155

Keputusan Presiden Republik Indonesia Nomor 79 Tahun 2001  
 tentang Komite Standar Nasional untuk Satuan Ukuran  
 Alamat : Puslit KIM-LIPI, Kompleks PUSPIPTEK, Serpong - Tangerang 15314  
 Telp. (02-021) - 7560533 - 7560534 - 7560571 - 7560562 - Fax. (02-021) - 7560568 - 7560064  
 Website : <http://www.kim.lipi.go.id> e-mail : [humas@kim.lipi.go.id](mailto:humas@kim.lipi.go.id)

---

Dilarang keras mengutip, memperbanyak dan/atau mempublikasikan sebagian isi Sertifikat ini tanpa izin tertulis dari Puslit KIM-LIPI.  
 Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Puslit KIM-LIPI

FORM : P01T/10-001



**PUSLIT KIM - LIPI**

LIPI

S. 029155  
 No. Order : D - 08.11.29  
 Subbidang Kalibrasi Mekanik  
 Lembar ke 2 dari 3 lembar

Nama Alat	Neraca Analitik		
Kapasitas	220 gram	Kondisi Ruang	
Resolusi	0.0001 gram	Suhu	24.8 °C
Tipe	AT 200	Kelembaban	63 %
No. Seri	25C - IDB 9798		
Pabrik/Merk	-/Mettler Toledo		

Tgl. Kalibrasi : 24 Des 08  
 Tempat Kalibrasi : Ruang Timbang  
 Puslit KIMIA - LIPI Serpong

**HASIL PENGUKURAN**

**1. Daya Ulang Pembacaan Timbangan**

Beban (gram)	Simpangan Baku (gram)
100	0.00014
200	0.00004

**2. Penyimpangan Penunjukkan Pembacaan**

Pembacaan (gram)	Koreksi (gram)	Ketidakpastian ± (gram)
19.9998	0.0001	0.0002
39.9997	0.0002	
59.9997	0.0002	
79.9996	0.0002	
99.9991	0.0003	
119.9989	0.0004	
139.9988	0.0005	
159.9989	0.0004	
179.9985	0.0006	
199.9991	0.0005	

**3. Persamaan Regresi**

Massa suatu benda sebagai fungsi dari penunjukkan pembacaan timbangan ( x ) adalah :

$$m_i \text{ (gram)} = 0.000039467 + 1.000002779 \cdot x_i$$

Dimana :  $m_i$  (gram) = besarnya massa suatu benda ke-i dalam satuan gram  
 $x_i$  = Penunjukkan pembacaan timbangan ke-i


**4. Limit of Performance Timbangan :**

± 0.0011 gram

Alamat : Puslit KIM-LIPI, Kompleks PUSPIPTEK, Serpong - Tangerang 15314  
 Telp. (62-021) 7560533 - 7560534 - 7560535 - 7560538 - 7560562 - 7560571, 7560906 Fax. (62-021) - 7560568, 7560064 Telex 45512 PPIT IA

\* Dilarang keras mengutip/memperbanyak dan/atau mempublikasikan sebagian isi Sertifikat ini tanpa seijin Puslit KIM-LIPI  
 \* Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Puslit KIM-LIPI

FORM : P017/10-001

 **PUSLIT KIM - LIPI**

S. 029155  
No. Order : D - 08.11.29  
Subbidang Kalibrasi Mekanik  
Lembar ke 3 dari 3 lembar

5. Efek Pembebanan Tidak di Pusat Pan :

Posisi	Pembacaan (gram)	Perbedaan Maksimum (gram)
Tengah	99.9987	0.0001
Depan	99.9987	
Kiri	99.9988	
Belakang	99.9988	
Kanan	99.9987	

6. Historisi :

Boban (gram)	Historisi (gram)
100	< 0.0001

Catatan :

1. Timbangan dikalibrasi berdasarkan prosedur kalibrasi IK-BK-MS03 yang mengacu pada "The Calibration of Balance", DB Prowse -CSIRO-NML-Australia.
2. Standar yang digunakan adalah anak timbangan standar kelas E2 Nomor Seri 275 yang tertelusur ke KIM-LIPI dengan No Sertifikat S 026190.
3. Ketidakpastian pengukuran yang diberikan dalam sertifikat ini menggunakan basis distribusi normal dengan tingkat kepercayaan 95% dengan faktor cakupan  $k = 2$ .
4. Perhitungan ketidakpastian mengacu ke ISO "Guide to Expression of Uncertainty in Measurement".
5. Jika tanda koreksi positif (+), maka nilai tersebut ditambahkan pada pembacaan timbangan dan jika tanda koreksi negatif (-), maka pembacaan timbangan harus dikurangi dengan nilai tersebut.
6. LOP (Limit of Performance) timbangan adalah rentang toleransi dimana didalamnya terdapat kemungkinan semua pembacaan timbangan.
7. Maximum pengukuran hanya sampai 200 g, sesuai dengan petunjuk pemakaian pada timbangan.

Akhir dari Sertifikat

Alamat : Puslit KIM-LIPI, Kompleks PUSPIPEK, Serpong - Tangerang 15314  
Telp. (62-021) 7560533 - 7560534 - 7560535 - 7560538 - 7560562 - 7560571, 7560906 Fax. (62-021) - 7560566, 7560064 Telex 45512 PPIT IA

\* Dilarang keras mengutip/memperbanyak dan/atau membiakiskan sebagian isi Sertifikat ini tanpa seijin Puslit KIM-LIPI  
\* Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Puslit KIM-LIPI