

**Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase dan Luas
Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri
untuk Mendeteksi Residu Pestisida Diazinon dan
Malathion Berbasis SPCE-Kitosan**

SKRIPSI

Oleh :
ALFI AZIZAH
105090200111021

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase dan Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri untuk Mendeteksi Residu Pestisida Diazinon dan Malathion Berbasis SPCE-Kitosan

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang kimia

Oleh :

ALFI AZIZAH

105090200111021

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase dan Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri untuk Mendeteksi Residu Pestisida Diazinon dan Malathion Berbasis SPCE-Kitosan

Oleh :

ALFI AZIZAH
105090200111021

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggaldan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Dr. Ani Mulyasuryani, MS
NIP. 196306281991032001

Pembimbing II

Drs. Sutrisno, M.Si
NIP. 1962031181990021001

Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Drs. Edi Priyo Utomo, MS
NIP.195712271986031003

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : ALFI AZIZAH
NIM : 105090200111021
Jurusan : Kimia
Penulis Tugas Akhir Berjudul : Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase dan Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri untuk Mendeteksi Residu Pestisida Diazinon dan Malathion Berbasis SPCE-Kitosan

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Tugas akhir ini adalah benar-benar karya saya sendiri, dan bukan plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka TA ini, semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi TA saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,.....

Yang menyatakan,

(ALFI AZIZAH)
NIM. 105090200111021

Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase dan Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri untuk Mendeteksi Residu Pestisida Diazinon dan Malathion Berbasis SPCE-Kitosan

ABSTRAK

Jumlah organofosfat hidrolase (OPH) berpengaruh terhadap laju hidrolisis pestisida organofosfat sehingga secara tidak langsung dapat mempengaruhi kinerja biosensor. Secara konduktometri, luas permukaan elektroda dapat berpengaruh terhadap daya hantar larutan yang diukur, sehingga berpengaruh terhadap kepekaan biosensor. Oleh karena itu, jumlah OPH dan luas permukaan elektroda dipelajari pada penelitian ini. OPH merupakan hasil isolasi *Pseudomonas putida*. Jumlah OPH didasarkan pada penggunaan konsentrasi OPH yang berbeda. Konsentrasi OPH yang diamobilkan adalah 142 $\mu\text{g/mL}$ dan 177 $\mu\text{g/mL}$. Elektroda adalah *Screen Printed Carbon Electrode* (SPCE) yang dilapisi dengan membran kitosan dengan ukuran 3 mm^2 , 5 mm^2 , dan 7 mm^2 . OPH diamobilkan secara pengikat silang menggunakan larutan glutaraldehid 0,5%. Larutan uji adalah larutan diazinon dan malathion dalam buffer tris-asetat 0,05 M pada pH 8,5 dengan kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja biosensor optimum dihasilkan pada jumlah OPH 177 μg dengan luas elektroda 5 mm^2 . Biosensor dapat digunakan untuk mengukur kadar diazinon dan malathion pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm dengan kepekaan terhadap diazinon sebesar 162 $\mu\text{S/ppm}$ dan malathion 144 $\mu\text{S/ppm}$. Batas deteksi diazinon sebesar 0,06 ppm dan malathion sebesar 0,04 ppm.

Kata kunci: biosensor konduktometri, diazinon dan malathion, organofosfat hidrolase, *screen printed carbon electrode*

The influence of Concentration of Organophosphate Hydrolase and Electrode Area on Performance Biosensor Conductometric to Detect Diazinon and Malathion Residue Pesticide Based SPCE-Chitosan

ABSTRACT

Concentration of organophosphate hydrolase (OPH) affecting to the rate of organophosphate pesticide, indirectly that affected to the performances of biosensor. Conductometrically, electrode surfaces area affected to the conductivity of solution that effect to biosensor's sensitivity. Therefore, concentration of OPH and electrode surfaces area was studied in this research. OPH was isolated *Pseudomonas putida* result. Concentration of OPH was 142 $\mu\text{g/mL}$ and 177 $\mu\text{g/mL}$. The electrode is Screen Printed Carbon Electrode (SPCE) which was coated by chitosan membrane using 3 mm^2 , 5 mm^2 , and 7 mm^2 surfaces electrode area. OPH was immobilized on surface electrode with glutaraldehyde 0.5% by cross linked. The sample solution was diazinon and malathion solution in tris-acetate buffer 0.05 M pH 8.5 on range 0 ppm until 0.1 ppm. The result show that the optimal performance of biosensor would be obtained in 177 μg of concentration of OPH with 5 mm^2 of surface electrode area. The biosensor can used to measure the diazinon and malathion in 0 ppm until 0.1 ppm with sensitivity of diazinon was 162 $\mu\text{S/ppm}$ and malathion was 144 $\mu\text{S/ppm}$. Detection limit of diazinon was 0.06 ppm and malathion was 0.04 ppm.

Keywords: conductometric biosensor, diazinon and malathion, organophosphate hydrolase, screen printed carbon electrode



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu. Penelitian yang berjudul *Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase dan Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri untuk Mendeteksi Residu Pestisida Diazinon dan Malathion berbasis SPCE-Kitosan* ini bertujuan untuk membantu masyarakat dalam menentukan hasil pertanian yang layak untuk dikonsumsi berdasarkan jumlah pestisida yang terkandung dalam sayuran. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis dibantu oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. Ani Mulyasuryani, MS, selaku dosen pembimbing I, Drs. Sutrisno, M.Si, selaku dosen pembimbing II, kedua orang tua, dan teman-teman yang senantiasa memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan, akan tetapi penulis berharap penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi terutama dalam bidang biosensor untuk memberikan alternative baru yang cepat dan akurat dalam menentukan sayuran yang layak untuk dikonsumsi. Semoga skripsi ini tidak hanya bermanfaat bagi penulis semata, tetapi juga bagi semua yang membaca.

Malang, Januari 2014

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biosensor	5
2.2 Transduser Konduktometri	6
2.3 Laju Reaksi Enzimatis	7
2.4 Biosensor Organofosfat	9
BAB III METODE PENELITIAN	13
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	13
3.2.1 Alat Penelitian	13
3.2.2 Bahan Penelitian	13
3.3 Tahapan Penelitian	13
3.4 Prosedur Penelitian	14
3.4.1 Amobilisasi Organofosfat Hidrolase	14
3.4.2 Penentuan Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri	14
3.4.3 Penentuan Pengaruh Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17

4.1 Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri.....	17
4.2 Pengaruh Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri.....	18
4.3 Batas Deteksi Biosensor Konduktometri Diazinon dan Malathion.....	21
BAB V PENUTUP	25
5.1 Kesimpulan.....	25
5.2 Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Prinsip kerja biosensor	5
Gambar 2.2.	Migrasi ion dalam larutan dan konduktivitas elektrolit.....	6
Gambar 2.3.	Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatik	8
Gambar 2.4.	Metode amobilisasi pengikat silang menggunakan glutaraldehid.....	9
Gambar 2.5.	Reaksi hidrolisis diazinon oleh organofosfat hidrolase	10
Gambar 2.6.	Reaksi hidrolisis malathion oleh organofosfat hidrolase	11
Gambar 4.1.	Hubungan jumlah enzim organofosfat hidrolase terhadap kepekaan biosensor	17
Gambar 4.2.	Kurva pengukuran daya hantar organofosfat pada kisaran konsentrasi 0 sampai 30 ppm menggunakan jumlah oph 177 µg	19
Gambar 4.3.	Kurva hubungan antara luas permukaan elektroda terhadap kepekaan biosensor menggunakan jumlah enzim organofosfat hidrolase 177 µg	21
Gambar 4.4.	Kurva hubungan konsentrasi organofosfat terhadap daya hantar.....	22
Gambar L.3.1.	Kurva hubungan antara konsentrasi organofosfat terhadap daya hantar.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Pengaruh luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor	19
Tabel 4.2.	Batas deteksi organofosfat pada biosensor konduktometri organofosfat.....	22
Tabel L.3.1.	Data hasil pengukuran daya hantar diazinon dan malathion menggunakan jumlah organofosfat hidrolase 142 µg.....	39
Tabel L.3.2.	Data hasil pengukuran daya hantar diazinon dan malathion menggunakan jumlah organofosfat hidrolase 177 µg	40
Tabel L.3.3.	Data hasil pengukuran daya hantar diazinon pada berbagai luasan elektroda	41
Tabel L.3.4.	Data hasil pengukuran daya hantar malathion pada berbagai luasan elektroda	42
Tabel L.3.5.	Hasil olah standar deviasi blanko ($S_B = S_y/x$) diazinon.....	44
Tabel L.3.6.	Hasil olah standar deviasi blanko ($S_B = S_y/x$) malathion.....	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran. 1 Diagram Alir Tahapan Penelitian.....	31
L.1.1 Diagram Alir Amobilisasi Organofosfat Hidrolase.....	31
L.1.2 Diagram Alir Penentuan Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri.....	32
L.1.3 Diagram Alir Penentuan Pengaruh Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri.....	32
Lampiran. 2 Pembuatan Larutan.....	33
L.2.1 Pembuatan Larutan Tris 0,05 M.....	33
L.2.2 Pembuatan Larutan Asam Asetat 0,8%.....	33
L.2.3 Pembuatan Larutan Asam Asetat 0,5 M.....	34
L.2.4 Pembuatan Larutan Asam Asetat 0,25 M.....	34
L.2.5 Pembuatan Larutan Buffer Tris-asetat 0,05 M pH 8,5.....	34
L.2.6 Pembuatan Larutan Diazinon 40 ppm.....	35
L.2.7 Pembuatan Larutan Malathion 145 ppm.....	35
L.2.8 Pembuatan Larutan Uji Diazinon dan Malathion 0 sampai 0,1 ppm Dalam Buffer Tris-asetat pH 8,5 0,05M.....	36
L.2.9 Pembuatan Larutan Kitosan.....	36
L.2.10 Pembuatan Larutan Uji Diazinon dan Malathion 0 sampai 30 ppm Dalam Buffer Tris-asetat pH 8,5 0,05M.....	37
L.2.10.1 Pembuatan Larutan Uji Diazinon 0 sampai 30 ppm Dalam Buffer tris-asetat pH 8,5 0,05 M.....	37
L.2.10.2 Pembuatan Larutan Uji Malathion 0 sampai 30 ppm Dalam Buffer Tris-asetat pH 8,5 0,05 M.....	38
Lampiran.3 Data Hasil Penelitian.....	39
L.3.1 Data Pengukuran Daya Hantar Diazinon dan Malathion Menggunakan Biosensor Enzim Organofosfat Hidrolase.....	39
L.3.2 Data Pengukuran Daya Hantar Diazinon dan Malathion Menggunakan Biosensor Konduktometri Enzim Organofosfat Hidrolase dengan Jumlah 177 µg pada Optimasi Luas Elektroda SPCE terhadap Kinerja Biosensor.....	41

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diazinon dan malathion adalah jenis pestisida organofosfat yang direkomendasikan oleh Departemen Pertanian Republik Indonesia. Batas maksimum residu yang diperbolehkan untuk diazinon pada beras yakni 0,1 ppm dan pada sayuran 0,5 ppm sedangkan malathion memiliki batas maksimum residu sebesar 0,5 ppm pada sayuran umbi dan kubis[1]. Residu pestisida yang terakumulasi dalam tubuh manusia dapat menghambat enzim asetilcholinesterase sehingga menyebabkan transmisi impuls syaraf terganggu[2]. Oleh karena itu diperlukan suatu metode analisis untuk menentukan kadar residu pestisida. Metode baku yang digunakan untuk menganalisis residu organofosfat diazinon dan malathion adalah Kromatografi Gas (KG) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi(KCKT)[3]. Akan tetapi, kedua metode tersebut masih memiliki waktu analisis yang lama dan batas deteksi yang cukup besar sehingga belum dapat diterapkan pada beras maupun sayuran[4]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, residu pestisida organofosfat yang dianalisis menggunakan metode KG diperoleh batas deteksi $2,16 \times 10^{-3}$ ppm sampai 0,22 ppm sedangkan pada metode KCKT diperoleh batas deteksi 0,02 ppm sampai 1,7 ppm [5,6,7,8]. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisis yang lebih cepat dan akurat untuk menganalisis residu pestisida organofosfat pada beras maupun sayuran. Salah satu metode dengan keunggulan tersebut adalah biosensor.

Biosensor adalah alat yang mampu mendeteksi suatu analit dengan menggunakan biomolekul sebagai bioaktif yang bekerja secara spesifik terhadap substrat yang digabungkan dengan suatu transduser[9]. Biosensor yang telah dikembangkan untuk menganalisis residu pestisida organofosfat adalah biosensor potensiometri, biosensor amperometri, dan biosensor konduktometri. Biosensor potensiometri yang telah dikembangkan untuk menganalisis residu diazinon menggunakan enzim

butilcholinesterase menghasilkan batas deteksi sebesar $3,39 \times 10^{-7}$ M dengan waktu respon 280 detik[9]. Biosensor amperometri malathion telah dilaporkan oleh Gahlaut, dkk.[10], menghasilkan batas deteksi 5×10^{-6} M. Kedua hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa biosensor masih batas deteksi yang besar sehingga belum dapat diaplikasikan pada sayuran. Biosensor konduktometri diazinon yang telah dikembangkan memiliki batas deteksi yang lebih rendah yakni 22,3 ppm dengan waktu respon 90 detik[11,12]. Namun demikian, batas deteksi yang dihasilkan masih cukup besar sehingga diperlukan suatu pengembangan biosensor konduktometri diazinon dan malathion lebih lanjut untuk meningkatkan kinerja biosensor agar dapat diaplikasikan dalam analisis residu diazinon dan malathion pada hasil pertanian terutama beras dan sayuran.

Biosensor residu pestisida organofosfat didasarkan pada reaksi hidrolisis organofosfat pada permukaan elektroda yang dikatalis oleh organofosfat hidrolase. Organofosfat hidrolase (OPH) dihasilkan dari isolasi *Pseudomonas putida*, yang mampu bekerja secara optimal pada pH 8,5[12,13]. Pada kondisi tersebut OPH dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis malathion menjadi ion H^+ , O,O dimetil fosforotioat dan 1,2-bis(etoksikarbonil)etil-1-sulfida serta diazinon menjadi ion O,O dietil fosforotioat dan 2-isopropil-6-metil pirimidin-4-ol serta ion H^+ [14]. Ion H^+ yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis tersebut dan mencapai elektroda kerja diukur secara konduktometri[15].

Kinerja biosensor konduktometri organofosfat dipengaruhi oleh jumlah enzim OPH yang teramobilkan. Dalam penelitian ini, jumlah enzim yang teramobilkan didasarkan pada penggunaan konsentrasi enzim yang berbeda saat proses amobilisasi secara pengikat silang. Berdasarkan persamaan Michaelis-Menten jumlah enzim berbanding lurus dengan kecepatan reaksi. Peningkatan jumlah enzim menyebabkan laju reaksi enzimatik berjalan dengan cepat. Ketika konsentrasi organofosfat tetap, pembentukan hasil hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah enzim yang digunakan[16]. Dengan demikian, secara tidak langsung jumlah enzim berpengaruh terhadap kinerja biosensor. Penelitian yang telah dilakukan oleh Adetama [11] menunjukkan bahwa jumlah enzim OPH yang lebih tinggi yakni 10,05 mg memiliki kepekaan yang lebih tinggi (1,635 nmho/ppm) dibandingkan jumlah enzim OPH pada 6,15 mg yang hanya menghasilkan kepekaan sebesar 1,106 nmho/ppm.

Secara konduktometri, kinerja biosensor juga dipengaruhi oleh luas permukaan elektroda yang digunakan. Menurut Gunzler,dkk. [17], luas permukaan sel daya hantar berpengaruh terhadap daya hantar larutan. Luas permukaan elektroda sebanding dengan daya hantar larutan. Pada penelitian ini pengaruh jumlah organofosfat hidrolase dan luas permukaan elektroda dipelajari lebih lanjut untuk meningkatkan kinerja biosensor konduktometri dalam menganalisis residu organofosfat diazinon dan malathion.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh jumlah organofosfat hidrolase terhadap kinerja biosensor?
2. Bagaimana pengaruh luas permukaan elektroda SPCE terhadap kinerja biosensor?

1.3 Batasan Masalah

1. Organofosfat yang digunakan adalah diazinon dan malathion.
2. Organofosfat hidrolase berasal dari hasil isolasi *Pseudomonas putida* dengan konsentrasi 142 $\mu\text{g/mL}$ dan 177 $\mu\text{g/mL}$.
3. Larutan amobilisasi yang digunakan adalah kitosan.
4. Konsentrasi glutaraldehid yang digunakan adalah 0,5% (v/v).
5. Luas elektroda karbon adalah 3 mm^2 , 5 mm^2 , dan 7 mm^2 .
6. Biosensor yang digunakan adalah biosensor konduktometer organofosfat.
7. Parameter kinerja biosensor yang dipelajari adalah batas deteksi,dan kepekaan.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mempelajari pengaruh jumlah organofosfat hidrolase terhadap kinerja biosensor.
2. Mempelajari pengaruh luas permukaan elektroda karbon terhadap kinerja biosensor.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan solusi baru untuk mendeteksi organofosfat dengan cepat, akurat, dan praktis.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biosensor

Biosensor merupakan instrumen yang mampu mendeteksi analit dengan cara mengkombinasikan biomolekul seperti enzim, sel, jaringan, dan asam nukleat dengan transduser. Dari Gambar 2.1 dijelaskan bahwa biosensor terdiri atas tiga komponen utama yakni biomolekul, transduser, dan detektor. Biomolekul merupakan komponen yang berfungsi sebagai bioaktif yang bekerja secara spesifik terhadap analit. Transduser adalah komponen yang berfungsi mengubah sinyal non elektrik menjadi sinyal elektrik sebagai hasil interaksi antara bioaktif dan analit. Detektor merupakan komponen yang berfungsi untuk merekam sinyal elektrik dari transduser[18,19,20]. Melalui biosensor ini hasil analisis sampel yang diperoleh memiliki selektifitas tinggi[9].

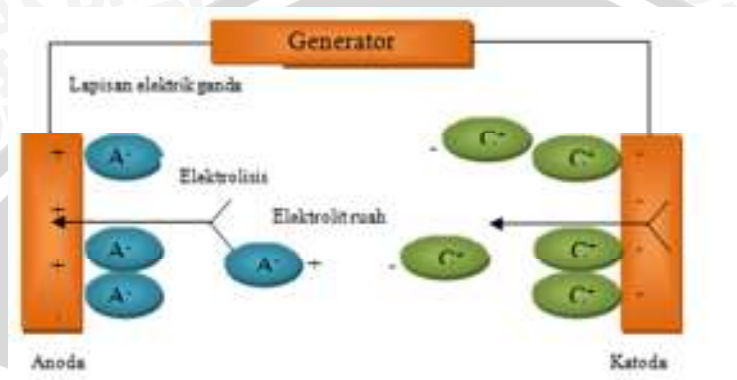
Transduser yang umum digunakan pada biosensor adalah transduser elektrokimia. Transduser elektrokimia terbagi atas potensiometri, amperometri, dan konduktometri. Transduser potensiometri didasarkan pada pengukuran potensial analit saat arus nol, sedangkan amperometri didasarkan pada pengukuran arus saat terjadi reaksi oksidasi atau reduksi analit pada elektroda kerja dengan potensial tetap. Pada transduser konduktometri, pengukuran didasarkan perubahan konduktansi akibat perubahan komposisi ion dalam larutan [15].



Gambar 2.1. Prinsip kerja biosensor[20]

2.2 Transduser Konduktometri

Konduktometri adalah metode pengukuran analit yang didasarkan pada perubahan daya hantar dari suatu larutan akibat pergerakan ion dalam larutan yang dipengaruhi oleh medan listrik. Gambar 2.2 menunjukkan mekanisme pergerakan ion dalam larutan yakni ketika dua buah elektroda dimasukkan ke dalam suatu larutan dan dialiri oleh beda potensial listrik maka akan timbul medan listrik dalam larutan elektrolit. Hal ini mengakibatkan terjadi pergerakan ion menuju elektroda yang memiliki muatan berlawanan yaitu anion menuju anoda yang bermuatan positif sedangkan kation menuju katoda yang bermuatan negative. Pergerakan ion-ion tersebut akan menghantarkan arus listrik di sekitar elektroda[15].



Gambar 2.2 Migrasi ion dalam larutan dan konduktivitas elektrolit[11]

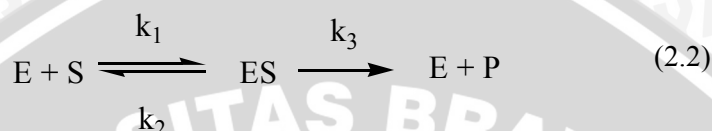
Daya hantar larutan berbanding terbalik dengan hambatan. Daya hantar (G) dinyatakan dengan satuan “Siemens(S)”. Daya hantar larutan bergantung pada konduktivitas spesifik ($k = S\text{ cm}^{-1}$), luas permukaan sel daya hantar ($A = \text{cm}^2$), dan jarak antar elektroda ($l = \text{cm}$) yang dihubungkan pada persamaan 2.1[17].

$$G = \frac{1}{R} = k \frac{A}{l} \quad (2.1)$$

Dari persamaan 2.1 dapat dijelaskan bahwa ketika nilai konduktivitas spesifik ion dan jarak antar elektroda tetap, maka daya hantar hanya dipengaruhi oleh luas permukaan sel daya hantar. Luas permukaan sel daya hantar sebanding dengan daya hantar larutan sehingga secara tidak langsung berpengaruh pada kepekaan biosensor. [17].

2.3 Laju Reaksi Enzimatis

Enzim adalah biokatalis yang mampu mempercepat reaksi kimia dengan cara menurunkan energi aktivasi pembentukan kompleks enzim-substrat. Mekanisme dasar kinetika reaksi enzim ditunjukkan pada persamaan 2.2[21]:



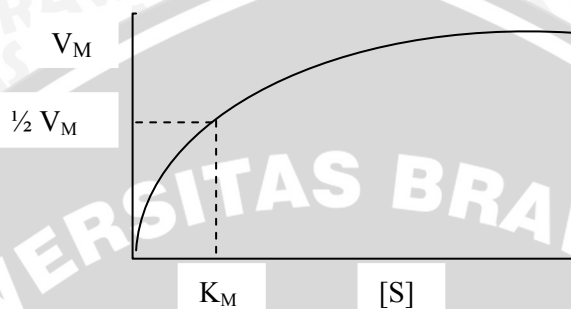
Dari persamaan 2.2, mekanisme kinetika reaksi enzim dapat dijelaskan dalam dua tahapan yakni reaksi pembentukan kompleks enzim-substrat secara reversibel dan reaksi pembentukan produk. Substrat (S) akan berikatan dengan sisi aktif enzim (E) membentuk kompleks enzim-substrat(ES) dengan tetapan laju pembentukan enzim-substrat (k_1). Komplek enzim-substrat dapat berlangsung reversibel yakni dapat terurai kembali menjadi enzim dan substrat dengan tetapan laju disosiasi komplek enzim-substrat (k_2) atau menghasilkan produk dan enzim kembali dengan tetapan laju pembentukan produk (k_3)[22].

Aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah substrat yang diubah menjadi produk oleh enzim per satuan waktu pada pH dan temperatur tetap[23]. Karakteristik enzim ditunjukkan pada nilai K_M dan V_M . Nilai K_M adalah Konstanta Michaelis-Menten yang menunjukkan konsentrasi substrat saat kecepatan reaksi mencapai setengah kecepatan reaksi, $[ES]$. Persamaan Michaelis-Menten diberikan pada persamaan 2.3[16].

$$v = \frac{d[P]}{dt} = V_M \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (2.3)$$

$$V_M = k_3[E_0] \quad (2.4)$$

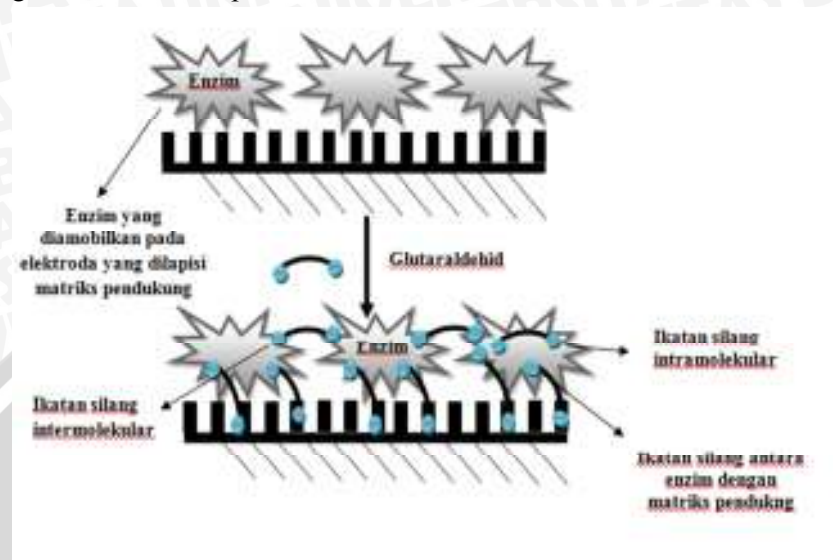
Berdasarkan persamaan 2.4 yang disubstitusi ke dalam persamaan 2.3 maka kecepatan reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim. Gambar 2.3 menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi substrat akan meningkatkan laju reaksi enzim sampai batas maksimum hingga laju reaksi enzim akan konstan. Dengan demikian, ketika konsentrasi substrat tetap, peningkatan konsentrasi atau jumlah enzim akan sebanding dengan pembentukan hasil reaksi [16,22,23].



Gambar 2.3. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatis[23]

Metode amobilisasi merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kinerja biosensor. Metode amobilisasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode amobilisasi pengikat silang. Metode pengikat silang merupakan metode amobilisasi yang melibatkan ikatan kimia antara enzim dengan material pendukung menggunakan senyawa pengikat silang. Material pendukung yang digunakan pada penelitian ini adalah kitosan sedangkan senyawa pengikat silang adalah glutaraldehid ($\text{OHC}-(\text{CH}_2)_3\text{-CHO}$). Gugus aldehid yang terdapat pada struktur glutaraldehid dapat mengikat gugus amino yang terdapat pada kitosan dan protein enzim secara kovalen. Dengan demikian, ikatan silang yang terbentuk antara kitosan, glutaraldehid, dan enzim menjadi lebih kuat. Reaksi ikatan silang yang terjadi mampu mengubah struktur dan pori membran dari

kitosan yang akan berpengaruh pada jumlah enzim yang teramobilkan[12]. Namun demikian, metode ini menyebabkan halangan ruang sehingga substrat sulit berikatan pada sisi aktif enzim. Selain itu, terkadang metode ini dapat merusak enzim sehingga menyebabkan penurunan respon[16]. Gambar 2.4 menunjukkan reaksi pembentukan ikatan silang antara kitosan, glutaraldehid, dan protein enzim.



Gambar 2.4. Metode amobilisasi pengikat silang menggunakan glutaraldehid [24]

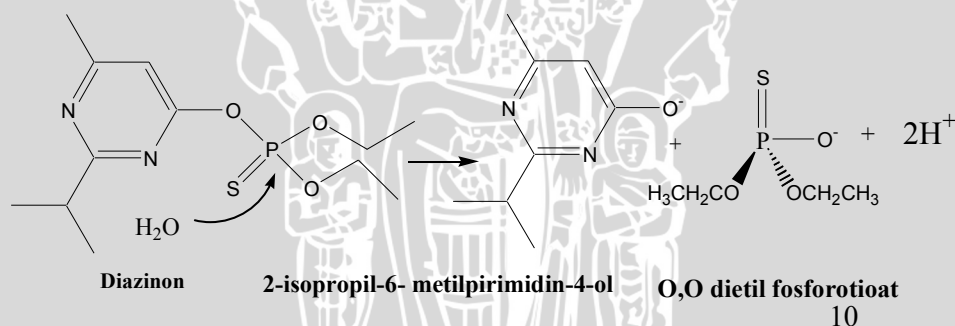
2.4 Biosensor Organofosfat

Organofosfat adalah jenis pestisida yang mengandung atom fosfor sebagai atom pusat dengan ikatan rangkap pada sulfur atau oksigen (ikatan fosfoester). Pestisida ini banyak ditemukan sebagai herbisida dan insektisida. Organofosfat memiliki nilai toksisitas akut atau *Lethal Dose 50%* (LD_{50}) yang bersifat neurotoksik terhadap serangga. LD_{50} menunjukkan nilai dosis yang bisa mematikan 50% binatang uji dan merupakan indikator daya racun pada pestisida untuk menimbulkan efek samping seperti iritasi mata, kanker, cacat bahkan kematian langsung pada hewan tingkat tinggi termasuk

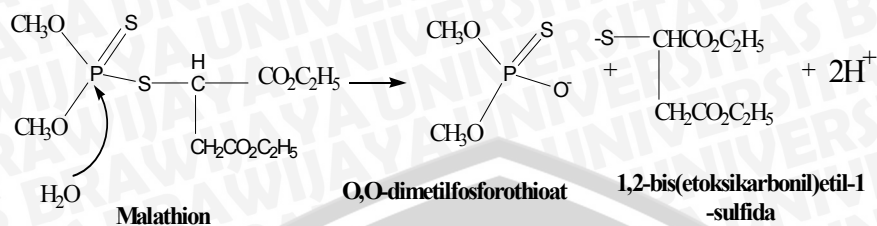
manusia. Penggunaan pestisida organofosfat yang berlebihan dapat menyebabkan keracunan bagi makhluk hidup. Paparan dari residu organofosfat dapat menyebabkan kerusakan pada sistem syaraf karena pestisida ini menghambat kerja dari enzim cholinesterase dalam syaraf[2,25].

Diazinon dan malathion adalah contoh jenis pestisida organofosfat yang bekerja dengan cara berikatan pada enzim acetilcholinesterase dalam darah sehingga sistem syaraf hewan target terganggu[2]. Diazinon dengan nama IUPAC O,O-dietil O-(2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il)-fosforotioat adalah cairan tidak berwarna dengan kelarutan dalam air sebesar 40 mg/L – 60 mg/L pada temperatur 20°C, dan nilai LD₅₀ sebesar 108 mg/kg pada tikus. Batas maksimum residu diazinon yang diperbolehkan pada sayuran kubis adalah 0,5 ppm dan 0,1 ppm pada beras. Malathion adalah jenis insektisida organofosfat dengan nilai LD₅₀ sebesar 1.300 mg/kg pada tikus. Malathion dengan nama IUPAC S-1,2-bis(etoksikarbonil)etil O,O-dimetil fosforoditioat mempunyai nilai kelarutan dalam air sebesar 145 mg/L pada temperatur 25°C dan batas maksimum residu yang diperbolehkan pada sayuran kubis dan umbi sebesar 0,5 ppm[1,2,26,27].

Dalam penentuan residu diazinon dan malathion, enzim OPH didasarkan pada reaksi katalitik hidrolisis organofosfat diazinon dan malathion. Dalam reaksi katalitik organofosfat oleh OPH, dua proton dilepaskan selama reaksi hidrolisis. Pada kondisi pH dan temperature optimum OPH akan menghidrolisis malathion menjadi ion H₃O⁺, O,O dimetilfosforothioat dan 1,2-bis(etoksikarbonil)etil-1-sulfida dan diazinon menjadi ion O,O dietil fosforotioat dan 2-isopropil-6-metil pirimidin-4-ol serta ion H⁺. Secara stoikiometri reaksi hidrolisis organofosfat oleh OPH dapat dituliskan sebagai berikut[14]:



Gambar 2.6. Reaksi hidrolisis diazinon oleh organofosfat hidrolase[14]



Gambar 2.7. Reaksi hidrolisis malathion oleh organofosfat hidrolase[14]

Biosensor organofosfat yang telah dikembangkan adalah biosensor potensiometri, biosensor amperometri, dan biosensor konduktometri[15]. Mekanisme kerja biosensor potensiometri didasarkan pada deteksi ion H⁺ hasil hidrolisis organofosfat dengan menggunakan elektroda pH, dengan batas deteksi yakni $3,32 \times 10^{-7}$ M [9]. Biosensor amperometri telah dikembangkan pula oleh Dan du,dkk., untuk mendeteksi malathion menggunakan enzim acetilcholinesterase yang diamobilkan pada polipirol dan polianilin[28]. Batas deteksi residu malathion yang dihasilkan sebesar 1 ppb. Mekanisme kerja dari biosensor ini didasarkan pada hasil hidrolisis pestisida malathion dalam bentuk reaksi oksidasi thiocholine yang dikatalisis oleh enzim acetilcholinesterase. Perubahan bentuk oksidasi dari malathion membutuhkan waktu inkubasi yang lama sehingga menyebabkan biosensor ini kurang efisien digunakan[28].

Metode kerja biosensor yang telah menghasilkan kinerja yang cukup baik adalah biosensor konduktometri. Biosensor konduktometri didasarkan perubahan konduktivitas dari larutan akibat pergerakan ion yang dipengaruhi oleh medan listrik[15]. Biosensor konduktometri organofosfat menggunakan organofosfat hidrolase

yang diamobilkan menggunakan BSA-glutaraldehid secara adsorpsi yang dilapiskan pada *Screen Printed Carbon Electrode* atau SPCE juga telah dikembangkan oleh Prayoga untuk mendeteksi residu pestisida diazinon[14]. Mekanisme kerja didasarkan pada reaksi hidrolisis organofosfat yang dikatalisis oleh enzim organofosfat hidrolase. Jumlah ion H^+ dari hasil hidrolisis menjadi nilai ukur pengukuran konduktivitas organofosfat. Metode ini memiliki batas deteksi residu yang rendah yakni 0,19 ppm dan telah diaplikasikan pada sayuran dan memiliki waktu respon tinggi pada 15 detik. Akan tetapi biosensor ini masih memiliki kepekaan yang cukup rendah yakni 22,89 $\mu S/ppm$. Oleh karena itu, perlu dikembangkan metode biosensor konduktometri organofosfat lebih lanjut untuk meningkatkan sensitivitas dan batas deteksi dari kinerja biosensor. Pengembangan biosensor konduktometri organofosfat dalam penelitian ini menggunakan organofosfat hidrolase yang diamobilkan pada membran kitosan secara metode pengikat silang. Metode pengikat silang mampu mereduksi enzim yang lepas dari material pendukung karena ikatan kimia yang terbentuk antar enzim sangat kuat dibandingkan adsorpsi. Selain itu lama pemakaian metode adsorpsi hanya bertahan dalam waktu 1 hari sedangkan metode pengikat silang memiliki jangka waktu tahan yang lebih lama yakni sekitar 1 bulan[16].

Pada rangkaian biosensor konduktometri yang dikembangkan, biosensor terdiri atas dua elektroda karbon SPCE yaitu elektroda kerja dengan enzim amobil dan elektroda pembanding tanpa enzim amobil. Sepasang elektroda karbon berfungsi dalam pengukuran daya hantar. Metode biosensor konduktometri ini didasarkan pada pengukuran daya hantar dari ion H^+ yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis organofosfat dan mencapai elektroda kerja[15].

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik dan Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang pada selama kurang lebih tiga bulan 2013.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, pH meter Schoot-Gerate tipe CG 820, neraca analitik Mettler tipe AE 50, magnetic stirer, diazinon meter, oven, microplate, refrigerator, dan *Screen Printed Carbon Electrode* (SPCE) dengan luas permukaan 3 mm², 5 mm², dan 7 mm².

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain organofosfat hidrolase(OPH) hasil isolasi dari bakteri *Pseudomonas putida* dengan konsentrasi enzim 142 µg/mL dan 177 µg/mL, pestisida organofosfat malathion (*Rider*) dan diazinon(*Diazinon 60 EC*), padatan tris, kitosan, larutan asam asetat glasial 99,7%(*Merck*), akuades, larutan glutaraldehid 0,5% (v/v).

3.3 Tahapan Penelitian

- 3.3.1 Amobilisasi Organofosfat Hidrolase
- 3.3.2 Penentuan Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri
- 3.3.3 Penentuan Pengaruh Luas Elektroda Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

3.4 Prosedur Kerja Penelitian

3.4.1. Amobilisasi Organofosfat Hidrolase

SPCE dibuat dengan luas 3 mm², 5 mm², dan 7 mm². Kemudian, sebanyak 10 µL larutan kitosan dilapiskan pada masing-masing elektroda dan dikeringkan selama 30 menit pada temperatur 50°C. Setelah kering, elektroda dilapisi dengan enzim organofosfat hidrolase (142 µg/mL) sebanyak 25 µL dan glutaraldehid 0,5% sebanyak 10 µL, lalu dikeringkan dalam refrigerator selama 24 jam. Dilakukan tahapan yang sama untuk enzim organofosfat hidrolase dengan konsentrasi (177 µg/mL).

3.4.2 Penentuan Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase (OPH) terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

SPCE dihubungkan pada biosensor konduktometer. Jarak antar elektroda diatur kurang lebih 0,1 cm. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi larutan uji diazinon dan malathion dengan kisaran konsentrasi 0 sampai 30 ppm secara bergantian. Diukur daya hantar masing-masing larutan uji organofosfat menggunakan biosensor konduktometer. Pengukuran ini dicatat setiap 10 detik (selama 1 siklus). Pengukuran masing-masing konsentrasi diazinon dan malathion dilakukan sebanyak 5 kali dengan elektroda baru. Setiap kali selesai pengukuran, elektroda dibilas dengan buffer tris-asetat pH 8,5. Lalu dibuat kurva hubungan daya hantar terhadap konsentrasi diazinon dan malathion.

3.4.3 Penentuan Pengaruh Luas Elektroda SPCE terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

SPCE dihubungkan pada biosensor konduktometer. Jarak antar elektroda diatur kurang lebih 0,1 cm. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi larutan uji diazinon dan malathion dengan konsentrasi 0 sampai 30 ppm secara bergantian. Diukur daya hantar masing-masing larutan uji organofosfat menggunakan biosensor konduktometer. Pengukuran ini dicatat setiap 10 detik (selama 1 siklus). Pengukuran masing-

masing konsentrasi diazinon dan malathion dilakukan sebanyak 5 kali dengan elektroda baru. Setiap kali selesai pengukuran, elektroda dibilas dengan buffer tris-asetat pH 8,5. Lalu dibuat kurva hubungan daya hantar terhadap konsentrasi diazinon dan malathion. Dilakukan prosedur yang sama untuk luas permukaan elektroda 5 mm^2 dan 7 mm^2 .

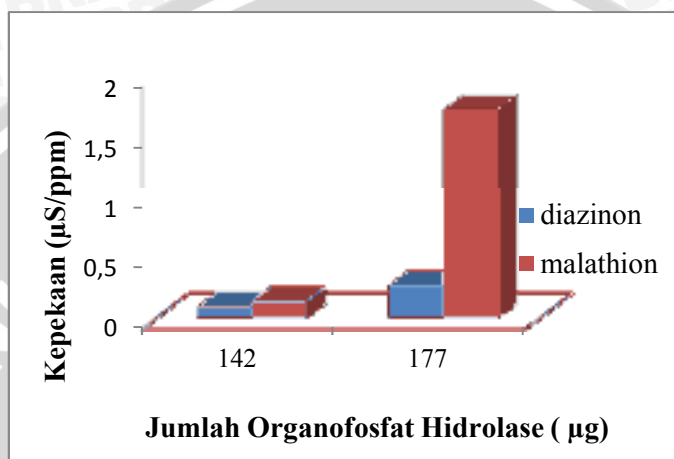




BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase (OPH) terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

Mengacu pada data lampiran L.3.1 dan L.3.2, hasil pengukuran daya hantar menggunakan biosensor dengan jumlah OPH yakni 142 μg dan 177 μg yang diukur pada konsentrasi organofosfat 0 sampai 30 ppm ditunjukkan pada Gambar 4.1 berikut ini:



Gambar 4.1. Hubungan jumlah enzim organofosfat hidrolase terhadap kepekaan biosensor

Pada konsentrasi organofosfat yang tetap, jumlah enzim berpengaruh terhadap kecepatan reaksi enzimatik[16]. Gambar 4.1 menunjukkan bahwa jumlah OPH 177 μg memiliki kepekaan 4,9 kali lebih tinggi dibandingkan jumlah OPH 142 μg . Hal ini disebabkan oleh jumlah OPH 177 μg memiliki jumlah enzim lebih tinggi dibandingkan jumlah OPH 142 μg . Peningkatan jumlah OPH

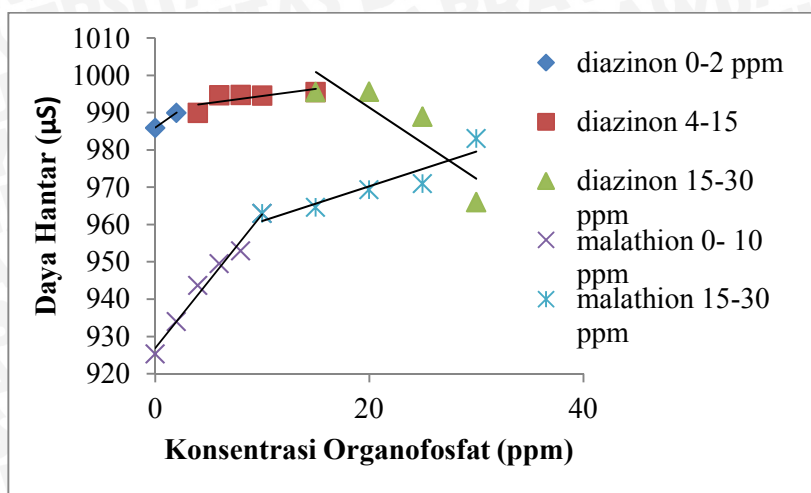
menyebabkan reaksi hidrolisis berlangsung cepat sehingga hasil hidrolisis yang terbentuk yakni ion H^+ dan mencapai permukaan elektroda menjadi lebih banyak. Ion-ion H^+ yang berdifusi ke permukaan elektroda berpengaruh terhadap kepekaan biosensor. Dengan demikian, secara tidak langsung peningkatan jumlah OPH dapat meningkatkan kepekaan biosensor sehingga kinerja biosensor yang dihasilkan menjadi lebih optimal.

Berdasarkan Gambar 4.1, peningkatan jumlah OPH tidak berpengaruh terhadap deteksi residu diazinon. Hal ini disebabkan oleh struktur diazinon yang terstabilkan oleh efek konjugasi, sehingga menyebabkan jumlah OPH yang digunakan belum cukup untuk menghidrolisis diazinon sehingga kepekaan yang dihasilkan cenderung tidak memberikan perubahan. Namun demikian, jumlah organofosfat hidrolase 177 μg telah menunjukkan kinerja biosensor yang optimum. Kinerja biosensor yang optimum ditunjukkan oleh kepekaan biosensor malathion yang meningkat 6,3 kali lebih tinggi dibandingkan kepekaan biosensor menggunakan jumlah OPH 142 μg . Oleh sebab itu, jumlah organofosfat hidrolase 177 μg merupakan jumlah yang optimum dan akan digunakan pada saat penentuan pengaruh luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor.

4.2 Pengaruh Luas Permukaan Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

Pada penentuan pengaruh jumlah organofosfat hidrolase terhadap kinerja biosensor konduktometri, daya hantar organofosfat diukur pada kisaran konsentrasi 0 sampai 30 ppm. Berdasarkan hasil pengukuran daya hantar yang ditunjukkan pada Tabel L.3.1, kepekaan biosensor yang diperoleh relatif rendah. Hal ini disebabkan oleh jumlah organofosfat hidrolase yang digunakan belum cukup untuk menghidrolisis organofosfat pada konsentrasi tinggi. Pada pengukuran daya hantar diazinon, kepekaan biosensor yang paling baik dihasilkan pada kisaran konsentrasi 0 hingga 2 ppm saja sehingga pada penentuan pengaruh luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor, daya hantar organofosfat diukur kembali pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm. Kurva hubungan antara

konsentrasi organofosfat terhadap daya hantar ditunjukkan pada Gambar 4.2 berikut:



Gambar 4.2. Kurva pengukuran daya hantar organofosfat pada kisaran konsentrasi 0 sampai 30 ppm menggunakan jumlah OPH 177 µg

Hasil dari kurva hubungan antara kepekaan biosensor terhadap luas permukaan elektroda yang diukur pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut:

Tabel 4.1. Pengaruh luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor

(a) Diazinon

Parameter	Biosensor Diazinon dengan Luas permukaan Elektroda		
	3 mm ²	5 mm ²	7 mm ²
Kisaran Konsentrasi	0-0,1 ppm	0-0,1 ppm	0-0,1 ppm
Persamaan regresi	$y = 53x + 704$	$y = 162x + 981$	$y = 72x + 1004$
Kepekaan	53 µS/ppm	162 µS/ppm	72 S/ppm

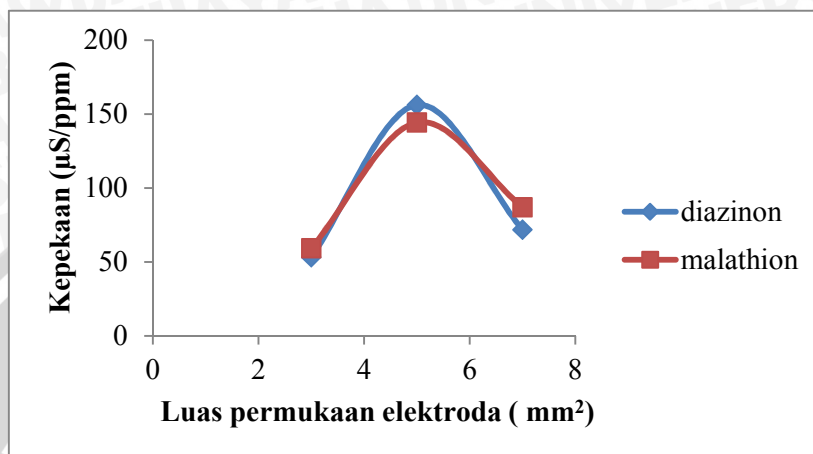
(b) Malathion

Parameter	Biosensor Malathion dengan Luas permukaan Elektroda		
	3 mm ²	5 mm ²	7 mm ²
Kisaran Konsentrasi	0-0,1 ppm	0-0,1 ppm	0-0,1 ppm
Persamaan regresi	$y = 59x + 790$	$y = 144x + 951$	$y = 87x + 983$
Kepekaan	59 μ S/ppm	144 μ S/ppm	87 μ S/ppm

Mengacu pada Tabel L.3.1 dan L.3.2, peningkatan luas elektroda dapat menghasilkan sinyal daya hantar yang tinggi pula. Hasil pengukuran daya hantar yang diperoleh telah menunjukkan bahwa luas permukaan elektroda berpengaruh terhadap harga daya hantar organofosfat. Berdasarkan hubungan antara luas permukaan elektroda terhadap daya hantar yang ditunjukkan persamaan 2.1 pada sub bab 2.2, dinyatakan bahwa luas permukaan sel daya hantar berbanding lurus terhadap harga daya hantar larutan[15]. Akan tetapi, hasil pengukuran daya hantar pada kisaran luas permukaan elektroda yang diperoleh tidak sebanding dengan kepekaan biosensor yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan pada Tabel 4.1, diketahui bahwa luas permukaan elektroda 5 mm² memiliki kepekaan lebih tinggi dibandingkan biosensor dengan luas permukaan 7 mm². Hal ini disebabkan oleh jumlah OPH yang dilapisi pada elektroda kurang tersebar merata dan kemampuan alat biosensor yang kurang maksimal untuk mengukur sinyal daya hantar diatas 1000 μ S sehingga kepekaan yang dihasilkan pada luas permukaan elektroda 7 mm² menjadi lebih rendah. Berdasarkan kepekaan biosensor yang diperoleh, luas permukaan elektroda 5 mm² merupakan luas permukaan elektroda yang optimum untuk meningkatkan kinerja biosensor sehingga luas permukaan ini dijadikan acuan untuk menentukan batas deteksi biosensor.

Berdasarkan Gambar 4.3 yang mengacu pada hasil pengukuran daya hantar pada Tabel L.3.3 dan L.3.4, biosensor malathion memiliki kepekaan lebih tinggi dibandingkan biosensor diazinon. Kepekaan biosensor diazinon yang rendah disebabkan oleh struktur diazinon mengandung senyawa aromatik yakni pirimidin yang terstabilkan oleh efek konjugasi. Selain itu pada ikatan

fosfoester diazinon, atom oksigen yang terikat pada atom fosfor cenderung memiliki reaktivitas lebih tinggi dibandingkan atom sulfur pada ikatan fosfoester malathion. Reaktivitas atom oksigen dipengaruhi oleh tingkat energi atom oksigen yang terletak pada orbital 3s, sedangkan atom sulfur terletak pada orbital 4s. Hal ini menyebabkan daya tarik atom oksigen terhadap atom fosfor cenderung lebih kuat dibandingkan atom sulfur. Oleh sebab itu, reaksi hidrolisis diazinon lebih sulit terjadi dibandingkan malathion sehingga laju hidrolisis diazinon menjadi lambat.

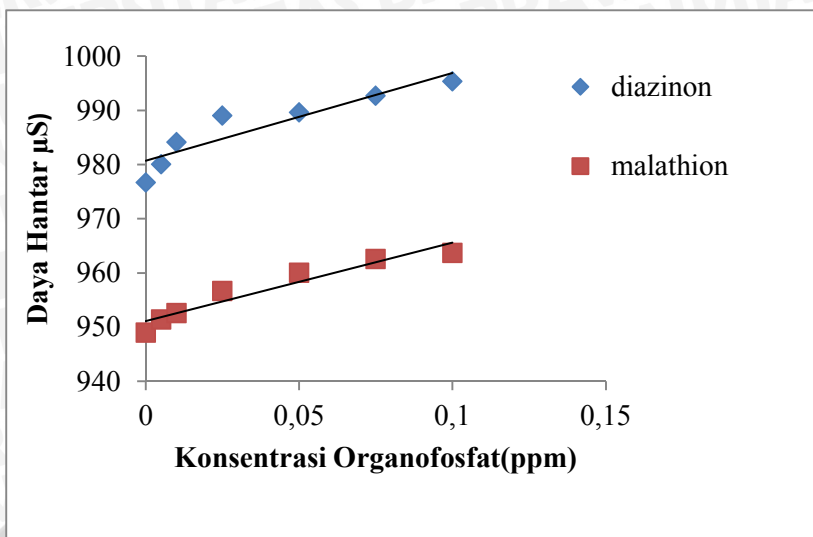


Gambar 4.3. Kurva hubungan antara luas permukaan elektroda terhadap kepekaan biosensor menggunakan jumlah enzim organofosfat hidrolase 177 µg

4.3. Batas Deteksi Biosensor Konduktometri Organofosfat

Parameter yang digunakan untuk mengetahui kinerja biosensor konduktometri diazinon dan malathion dapat dipelajari dari batas deteksi pengukuran daya hantar organofosfat. Batas deteksi biosensor merupakan konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi oleh biosensor dan masih memberikan sinyal daya hantar 3 kali dari sinyal blanko[16]. Batas deteksi diperoleh dari kurva hubungan antara daya hantar terhadap

konsentrasi organofosfat pada Gambar 4.4. Hasil pengolahan batas deteksi biosensor dapat ditunjukkan pada Tabel 4.3:



Gambar 4.4. Kurva hubungan konsentrasi organofosfat terhadap daya hantar

Tabel 4.2. Batas deteksi organofosfat pada biosensor konduktometri organofosfat

Organofosfat	Batas deteksi (ppm)
Diazinon	0,06
Malathion	0,04

Dari Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa kinerja biosensor dalam mendeteksi diazinon dan malathion menghasilkan batas deteksi lebih rendah dari batas maksimum residu organofosfat yang diperbolehkan yakni diazinon sebesar 0,06 ppm dan malathion sebesar 0,04 ppm. Hal ini mengacu pada sub bab 2.4, bahwa batas maksimum residu organofosfat yang diperbolehkan pada hasil pertanian untuk diazinon 0,5 ppm pada kubis dan 0,1 ppm pada beras dan malathion adalah 0,5 ppm untuk sayuran kubis dan umbi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja biosensor konduktometri yang optimum diperoleh dari jumlah OPH 177 μg dengan luas permukaan elektroda 5 mm^2 . Dari penentuan batas deteksi biosensor yang diukur pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm dalam rentang waktu 10 detik diperoleh batas deteksi diazinon 0,06 ppm dan malathion sebesar 0,04 ppm dengan kepekaan masing-masing sebesar 162 $\mu\text{S/ppm}$ dan 144 $\mu\text{S/ppm}$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode biosensor konduktometri telah menghasilkan kinerja yang lebih baik dan dapat digunakan untuk mendeteksi residu diazinon dan malathion pada sampel sayuran.





BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Jumlah OPH dan luas permukaan elektroda berpengaruh terhadap kinerja biosensor konduktometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja biosensor optimum dihasilkan pada jumlah OPH 177 μg dengan luas elektroda 5 mm^2 . Biosensor dapat digunakan untuk mengukur kadar diazinon dan malathion pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm dengan kepekaan terhadap diazinon sebesar 162 $\mu\text{S/ppm}$ dan malathion 144 $\mu\text{S/ppm}$. Batas deteksi diazinon sebesar 0,06 ppm dan batas deteksi malathion sebesar 0,04 ppm.

5.2. Saran

Penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut untuk mendeteksi residu pestisida diazinon dan malathion secara langsung pada sayuran dan beras.





DAFTAR PUSTAKA

- [1] Tim Badan Standarisasi Nasional, 2008, **Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian**, SNI: 7313;2008, Standarisasi Nasional Indonesia, Jakarta, 22 dan 84.
- [2] Runia, Yodencia Assti, 2008, **Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Keracunan Pestisida Organofosfat, Karbamat, dan kejadian Anemia pada Petani Hortikultura Desa Tejosari kecamatan Ngablak Kabupaten Magelang**, *Tesis*, Program Studi Magister Kesehatan Lingkungan, Universitas Diponegoro, Semarang, 26-50.
- [3] Environmental Protection Agency (EPA), 2007, **Method 1699: Pesticides In Water, Soil, Sediment, Biosolids, And Tissue By HRGC/HRMS**. EPA-821-R-08-001, Washington, 5.
- [4] Sismindari, Bambang S., Abdul Rohman, Harsojo, Tri Joko R., 2006, Analisis Residu Pestisida Organofosfat Diazinon, Profenofos, dan Ethion dalam Kubis secara Kromatografi Gas, *Prosiding PPIS, Edisi 2006*, 21, Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- [5] Trian, Herti, 2001, **Analisis Residu Metidation dengan Metode KCKT untuk Menentukan Tingkat Bioremediasi Pestisida Organofosfat Metidation oleh Mikroba Indigenus**, *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 1-6.
- [6] Lin Xu, Zen, Hao Deng, Xing-Fei Deng, Jin-Yi Yang, Yue-ing jiang, Dao-Ping Zeng, Fang Huang, Yu-Dong Shen, Hong-Tao Lei, Hong Wang, Yuan-Ming Sun, 2012, **Monitoring of Organophosphorus Pesticides in**

Vegetables Using Monoclonal Antibody-Based Direct Competitive ELISA Followed by HPLC-MS/MS, *Food Chemistry*, 131, 1569-1576.

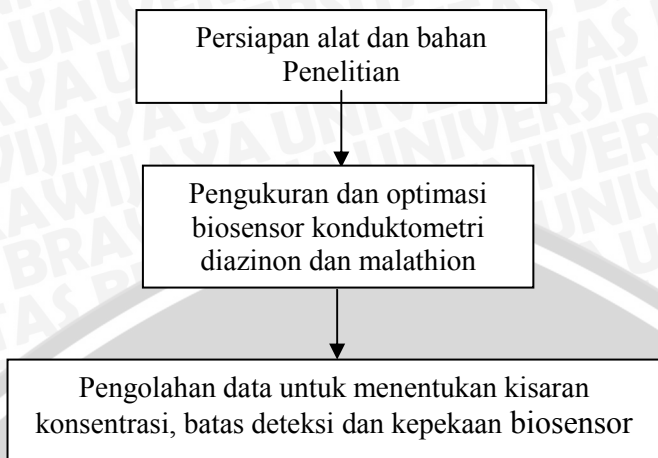
- [7] Rodrigues, Frederico, Paulo R.R. Mesquita, Lidia S. de Oliveira, Fabio S. de Oliveira, Adalberto Menezes Filho, Pedro. A. de P. Pereira, Jailson B. de Andrade, 2011, **Development of a Headspace Solid-Phase Microextraction/ Gas Chromatography – Mass Spectrometry Method for Determination of Organophosphorus Pesticide Residue in Cow Milk, *Microchemical Journal*, 98, 56-61.**
- [8] Febbraio F., Merone L, Cetrangolo GP, Rossi M., Nucci R dan Manco G., 2011, **Thermostable Esterase 2 from *Alicyclobacillus acidocaldarius* as Biosensor for the Detection of Organophosphate Pesticide, *Analytical Chemistry*, 83, 1530-1536.**
- [9] Azis, Thamrin, 2012, **Desain dan Karakterisasi Biosensor Berbasis Immobilisasi Enzim untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon dalam Tanaman Kubis (*Brassica oleraceae*), *Paradigma*, 16,57-66.**
- [10] Gahlaut, Anjum, Ashih Gothwal, Anil K. Chhillar, Vikas Hooda, 2012, **Electrochemical Biosensor for Determination of Organophosphorus Compounds : Review, *Applied Bioensor*, 1,1-8.**
- [11] Adetama, S., 2012, **Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase Amobil pada Membran Kitosan Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Organofosfat, *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, 18-25.**
- [12] Prayoga, I., 2012, **Pengaruh Konsentrasi Glutaraldehid yang Ditambahkan pada Membran Kitosan terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Diazinon, *Skripsi*, Universitas Brawijaya, Malang, 17-23.**

- [13] Prayoga, I., 2013, **Pembuatan dan Karakterisasi Biosensor Dizinon Menggunakan Organofosfat Hidrolase yang Diamobilkan pada Screen Printed Carbon Electrode yang Dimodifikasi dengan BSA-Glutaraldehyd**, *Tesis*, Universitas Brawijaya, Malang, 29-42.
- [14] Cremlyn, R.J., 1991, **Agrochemicals Preparation and Mode Action**. John Wiley and Sons, England, 105-119.
- [15] Renault, N.J. dan Dzyadevych, S.V., 2008, **Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitoring**, *Sensors*, **8**, 2569-2588.
- [16] Eggins, B.R., 2002, **Chemical Sensor and Biosensor**, John Wiley and Sons, Ltd, England, 92-101.
- [17] Gunzler, helmut dan Alex Williams, 2001, **Handbook of Analytical Techniques**, Edisi 01, Wiley-VCH, Jerman, 959-969.
- [18] Wagner, Gabriele dan George G. Guilbault, 1994, **Food Biosensor Analysis**, Marcel Dekker, New York, 1-31.
- [19] Grieshaber, D., Mackenzie, R., Vorros J., Remhult, 2008, **Electrochemical Biosensor Principles and Architectures**, *Sensor*, **8**, 1400-1458.
- [20] Poernomo, T., 2008, **Fabrication of A Disposable Glucose Biosensor on Screen Printed Carbon Electrode**, *Tesis*, Chemical Engineering, National Taiwan University of Science and Technology, Taiwan, , 1-14.
- [21] Manz, Andrea, Nicole Pamme, dan Dimitri Iossifidis, 2004, **Bioanalytical Chemistry**, Imperial College Press, London, 111-127.
- [22] Holme, David J. Dan Hazel Peck, 1998, **Analytical Biochemistry Third Edition**, Pearson Education Limited, England, 257-317.

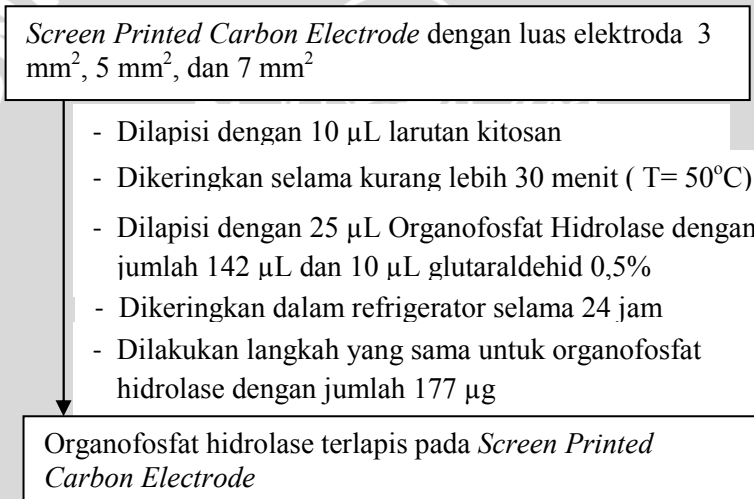
- [23] Mikkelsen, S.R., dan Corton, E., **2004, Bioanalytical Chemistry, John Wiley and Sons, USA, 253-314.**
- [24] Barbosa, Oveimar, Claudia Ortiz, Ángel Berenguer-Murcia, Rodrigo Torres, Rafael C. Rodrigues, dan Roberto Fernandez-Lafuente, 2014, **Glutaraldehyde in Bio-Catalysts Design: A Useful Crosslinker and A Versatile Tool in Enzyme Immobilization, Royal Society of Chemistry, 4, 1583-1600.**
- [25] Paliwal, S., 2008, **Development of Enzyme Based Biosensor for the Detection of Organophosphate Neurotoxins, Disertasi, Materials engineering, Auburn University, Auburn, 1-30.**
- [26] National Registration Authority, 2002, **NRA Review of Diazinon.** National Registration Authority for Agricultural & Veterinary Chemicals, Canberra, 1-8.
- [27] Tim Agrokimia, 2006, **Material Safety Data Sheet Malathion Tech., The National Company for Agrochemicals Investment, 121-75-5, Mesir, 1-8.**
- [28] Du, Dan, Xiaoxue Yea, Jie Caib, Juan Liua, Aidong Zhanga 2010, **Acetylcholinesterase Biosensor Design Based on Carbon Nanotube- Encapsulated Polypyrrole and Polyaniline Copolymer for Amperometric Detection of Organophosphates, Biosensor and Bioelectronics, 25, 2503-2508.**
- [29] Miller, J.C. and J.N.Miller, 1994, **Statistic for Analytical Chemistry, 2nd Edition, Suroso, Institut Teknologi Bandung, ITB, 120-124.**

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Tahapan Penelitian



L.1.1. Diagram Alir Amobilisasi Organofosfat Hidrolase



L.1.2. Diagram Alir Penentuan Pengaruh Jumlah Organofosfat Hidrolase terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

Screen Printed Carbon Electrode

- dihubungkan pada biosensor konduktometer
- diatur kurang lebih 0,1 cm
- dicelupkan ke dalam larutan uji diazinon dan malathion
- diukur daya hantar masing-masing larutan uji organofosfat menggunakan biosensor konduktometer
- secara bergantian
- dicatat setiap 10 detik (1 siklus)
- dilakukan pengukuran sebanyak 5 kali dengan elektroda baru
- dibilas dengan larutan buffer Tris-Asetat pH 8,5 0,05 M
- dibuat kurva hubungan daya hantar terhadap konsentrasi diazinon dan malathion

Pengaruh jumlah organofosfat hidrolase terhadap kinerja biosensor konduktometri

L.1.3 Diagram Alir Penentuan Pengaruh Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

SPCE dengan luas masing-masing 3 mm², 5 mm², dan 7 mm²

- dihubungkan pada biosensor konduktometer
- diatur kurang lebih 0,1 cm
- dicelupkan ke dalam larutan uji diazinon dan malathion
- diukur daya hantar masing-masing larutan uji organofosfat menggunakan biosensor konduktometer
- secara bergantian
- dicatat setiap 10 detik (1 siklus)
- dilakukan pengukuran sebanyak 5 kali dengan elektroda baru



- dibilas dengan larutan buffer Tris-Asetat pH 8,5 0,05 M
- dibuat kurva hubungan daya hantar terhadap konsentrasi diazinon dan malathion

Pengaruh luas elektroda terhadap kinerja biosensor konduktometri

Lampiran 2. Pembuatan Larutan

L.2.1 Pembuatan Larutan Tris 0,05 M

Sebanyak 6,057 g padatan tris ditimbang dan dilarutkan dengan sedikit akuades dalam gelas kimia. Kemudian larutan tersebut dipindahkan ke dalam labu takar 1000 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

$$\begin{aligned} \text{BM Tris} &= 121,14 \frac{\text{g}}{\text{mol}}; \text{ Volume Tris } 1000 \text{ mL}; \text{ Konsentrasi Tris } 0,1 \text{ M} \\ \text{mol Tris} &= [\text{Tris}] \times \text{Volume Tris} \\ &= 0,05 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 1 \text{ L} = 0,05 \text{ mol} \\ \text{massa Tris} &= \text{mol Tris} \times \text{BM Tris} \\ &= 0,05 \text{ mol} \times 121,14 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 6,057 \text{ g} \end{aligned}$$

L.2.2 Pembuatan Larutan Asam Asetat 0,8%

Larutan asam asetat glasial 99,7% dipipet sebanyak 80 μL menggunakan mikropipet. Setelah itu dilarutkan dengan sedikit akuades dalam gelas kimia. Lalu dipindahkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas serta dikocok hingga homogen.

$$M = \frac{0,8\%}{99,7\%} \times 10 \text{ mL} = 0,08 \text{ mL} = 80 \mu\text{L}$$

L.2.3 Pembuatan Larutan Asam Asetat 0,5 M

Larutan asam asetat glasial 99,7% dipipet sebanyak 29 mL menggunakan pipet ukur. Setelah itu dilarutkan dengan sedikit akuades dalam gelas kimia. Lalu dipindahkan ke dalam labu takar 1000 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas serta dikocok hingga homogen.

$$M = \frac{\rho \times 10 \times \% \text{kadar}}{M_r}$$

$$M = \frac{1,050 \frac{\text{g}}{\text{ml}} \times 10 \times 99,7}{60,05 \text{ g/mol}} = 17,433 \text{ M} = 17,43 \text{ M}$$

$$V \text{CH}_3\text{COOH yang dipipet} = \frac{0,5 \text{ M}}{17,43 \text{ M}} \times 1000 \text{ mL} = 28,69 \text{ mL} = 29 \text{ mL}$$

L.2.4 Pembuatan Larutan Asam Asetat 0,25 M

Larutan asam asetat 0,5 M dipipet sebanyak 500 ml. dilarutkan dengan sedikit akuades dalam gelas kimia dan dipindahkan ke dalam labu takar 1000 mL. Kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

$$V \text{CH}_3\text{COOH yang dipipet} = \frac{0,25 \text{ M}}{0,5 \text{ M}} \times 1000 \text{ mL} = 500 \text{ mL}$$

L.2.5 Pembuatan Larutan Buffer Tris-asetat 0,05 M pH 8,5

Larutan tris 0,05 M diambil sebanyak 948 ml, kemudian ditambahkan 52 mL larutan asam asetat 0,25 M sambil diaduk. Lalu diukur pH larutan dengan pH meter yang telah dikalibrasi hingga pH mencapai 8,5.

$$\text{Larutan tris} = 0,05 \text{ M (x)} \quad x + y = 1000 \text{ mL}; \quad x = 1000 - y$$

$$\text{Larutan asam asetat} = 0,25 \text{ M (y)}$$

$$[\text{OH}^-] = K_b \frac{(\text{mol tris-mol asetat})}{\text{mol asetat}}$$

$$10^{-5,5} = 1,2 \times 10^{-6} \frac{(0,05 x - 0,25 y)}{0,25 y}$$

$$\frac{3,16 \times 10^{-6}}{1,2 \times 10^{-6}} = \frac{0,05 x - 0,25 y}{0,25 y}$$

$$0,658 y = 0,05 x - 0,25 y$$

$$0,658 y + 0,25 y = 0,05 (1000 - y)$$

$$0,9083 y = 50 - 0,05 y$$

$$0,9583 y = 50$$

$$y = 52,2 \text{ mL} = 52 \text{ mL}$$

$$x + y = 1000 \text{ mL}$$

$$x = 1000 - y$$

$$x = 1000 - 52 \text{ mL}$$

$$x = 948 \text{ mL}$$

L.2.6 Pembuatan Larutan Diazinon 40 ppm

Larutan pekat diazinon dipipet sebanyak 33 μL menggunakan mikropipet. Setelah itu, dilarutkan dengan akuades dalam gelas kimia. Kemudian dipindahkan dalam labu takar 500 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas serta dikocok hingga homogen.

$$V \text{ diazinon} = \frac{40 \text{ ppm}}{600.000 \text{ ppm}} \times 500 \text{ mL} = 0,03 \text{ mL} = 33 \mu\text{L}$$

L.2.7 Pembuatan Larutan Malathion 145 ppm

Larutan pekat malathion dipipet sebanyak 145 μL menggunakan mikropipet. Setelah itu dilarutkan dengan akuades dalam gelas kimia. Kemudian dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas serta dikocok hingga homogen.

$$V \text{ malathion} = \frac{145 \text{ ppm}}{500.000 \text{ ppm}} \times 500 \text{ mL} = 0,145 \text{ mL} = 145 \mu\text{L}$$

L. 2.8 Pembuatan Larutan Uji Diazinon dan Malathion dalam Buffer Tris-Asetat pH 8,5 0,05 M

Larutan diazinon dan malathion 10 ppm dipipet menggunakan mikropipet sesuai volume berikut :

Konsentrasi organofosfat (ppm)	Volume yang dipipet (μL)
0	0
0,005	12,5
0,01	25
0,025	62,5
0,05	125
0,075	187,5
0,1	250

Kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades dan dipindahkan ke dalam labu takar 25 mL, ditambahkan buffer tris-asetat 0,05 M pH 8,5 sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.2.9 Pembuatan Larutan Kitosan

Sebanyak 1 g kitosan ditimbang dan ditambahkan 0,08 mL larutan asam asetat 0,8%, kemudian diaduk selama 24 jam pada temperature kamar. Setelah itu, dipindahkan ke dalam botol kaca[12].

L. 2.10 Pembuatan larutan Uji Diazinon dan Malathion dalam Buffer Tris-Asetat pH 8,5 0,05 M**L.2.10.1 Pembuatan Larutan Uji Diazinon 0 sampai 30 ppm dalam Buffer Tris-Asetat pH 8,5 0,05 M**

Larutan diazinon 40 ppm dipipet menggunakan pipet ukur sesuai volume berikut :

Konsentrasi organofosfat (ppm)	Volume yang dipipet (mL)
0	0
2	5
4	10
6	15
8	20
10	25
15	38
20	50
25	63
30	75

Kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades dan dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL, ditambahkan buffer tris-asetat 0,05 M pH 8,5 sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.2.10.2 Pembuatan Larutan Uji Malathion 0 sampai 30 ppm dalam Buffer Tris-Asetat pH 8,5 0,05 M

Larutan Malathion 145 ppm dipipet menggunakan pipet ukur 10 mL dan 1 mL sesuai volume berikut :

Konsentrasi organofosfat (ppm)	Volume yang dipipet (mL)
0	0
2	1
4	3
6	4
8	6
10	7
15	10
20	14
25	17
30	21

Kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades dan dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL, ditambahkan buffer tris-asetat 0,05 M pH 8,5 sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

Lampiran3. Data Hasil Penelitian

L.3.1 Data Pengukuran Daya Hantar Diazinon dan Malathion Menggunakan Biosensor Enzim Organofosfat Hidrolase

Tabel L.3.1 Data hasil pengukuran daya hantar diazinon dan malathion menggunakan biosensor enzim organofosfat hidrolase dengan jumlah 142 μg pada kisaran konsentrasi 0-30 ppm

Konsentrasi Organofosfat (ppm)	Daya Hantar Organofosfat (μS)	
	Diazinon	Malathion
0	954	939
2	959	948
4	960	951
6	962	951
8	964	960
10	960	955
15	962	953
20	961	952
25	946	951
30	938	956

Tabel L.3.2 Data hasil pengukuran daya hantar diazinon dan malathion menggunakan biosensor enzim organofosfat hidrolase dengan jumlah 177 µg pada kisaran konsentrasi 0-30 ppm

Konsentrasi Organofosfat (ppm)	Daya Hantar Organofosfat (µS)	
	Diazinon	Malathion
0	985	925
2	990	934
4	989	943
6	994	949
8	994	953
10	994	963
15	995	964
20	995	969
25	988	971
30	966	983

L.3.2 Data Pengukuran Daya Hantar Diazinon dan Malathion Menggunakan Biosensor Konduktometri Enzim Organofosfat Hidrolase dengan Jumlah 177 µg pada Optimasi Luas Elektroda SPCE terhadap Kinerja Biosensor

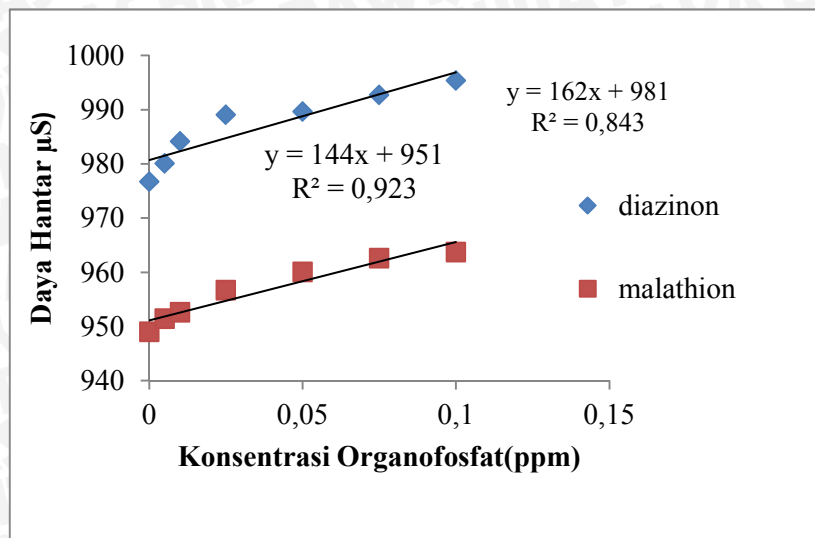
Tabel L.3.3. Data pengukuran daya hantar diazinon menggunakan biosensor konduktometri organofosfat hidrolase dengan jumlah 177 µg pada berbagai luasan elektroda dengan kisaran konsentrasi 0-0,1 ppm

Konsentrasi Diazinon (ppm)	Daya hantar dari Luas Permukaan elektroda SPCE (mm ²)		
	3 mm ²	5 mm ²	7 mm ²
0	703	977	1002
0,005	704	980	1005
0,01	706	984	1005
0,025	707	989	1007
0,05	708	990	1008
0,075	708	993	1009
0,1	709	995	1011

Tabel L.3.4. Data pengukuran daya hantar malathion menggunakan biosensor konduktometri enzim organofosfat hidrolase dengan jumlah 177 μg pada berbagai luasan elektroda dengan kisaran konsentrasi 0-0,1 ppm

Konsentrasi Malathion (ppm)	Daya hantar dari Luas Permukaan elektroda SPCE (mm^2)		
	3 mm^2	5 mm^2	7 mm^2
0	789	949	981
0,005	790	951	983
0,01	791	953	985
0,025	792	957	986
0,05	793	960	989
0,075	795	963	989
0,1	796	964	992

Batas deteksi dapat ditentukan dari 3 kali standar deviasi blanko dibagi dengan kepekaan biosensor. kepekaan biosensor ditunjukkan dari slope atau kemiringan yang diperoleh dari Gambar L.3.1:



Organofosfat	Persamaan Regresi Linier	Linieritas (R ²)
Diazinon	$y = 162x + 981$	0,843
Malathion	$y = 144x + 951$	0,923

Gambar L.3.1. Kurva hubungan antara konsentrasi organofosfat terhadap daya hantar

Perhitungan:

- x_i = x ke i (konsentrasi organofosfat (ppm))
- y_i = y ke i (hasil pengukuran daya hantar) (μ S)
- y_B = sinyal daya hantar blanko (diperoleh dari titik potong yang melalui x,y = intersept) (μ S)
- \hat{y} = \hat{y} ke i (dengan cara memasukkan x_i ke persamaan regresi yang diperoleh dari kurva hubungan antara daya hantar terhadap konsentrasi organofosfat) (μ S)
- n = jumlah titik
- S_B = standar deviasi blanko (= S_y/x)

- b = slope/kemiringan yang menunjukkan kepekaan dari biosensor dan diperoleh dari kurva hubungan antara daya hantar terhadap konsentrasi organofosfat
- KV = koefisien varians pada tingkat kepercayaan 95% dengan derajat kebebasan (α) = 5%
- y = sinyal daya hantar biosensor yang berbeda signifikan dengan 3 kali sinyal blanko (penjumlahan antara 3 kali S_B dengan y_B) (μS)

Rumus Standar Deviasi Blanko [29]

$$S_{y/x} = S_B = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n-2}} \quad (L.3.1)$$

Rumus Penentuan Batas Deteksi [29]

$$LOD = \frac{3 \times S_B + y}{b} \quad (L.3.2)$$

Rumus koefisien varians

$$KV = \frac{t \times S_B}{\sqrt{n}} \quad (L.3.3)$$

Tabel L.3.5 Hasil olah standar deviasi blanko ($S_B = S_{y/x}$) diazinon

x	y_i	\hat{y}	$ y_i - \hat{y} $	$(y_i - \hat{y})^2$
0	977	982	5	25
0,005	980	982	2	4
0,01	984	983	1	1
0,025	989	986	3	9
0,05	990	989	1	1
0,075	993	993	0	0
0,1	995	997	2	4
total				44
standar deviasi				2,97

Perhitungan batas deteksi diazinon:

$$\begin{aligned}
 y &= (3 \times S_B) + y_B \\
 &= (3 \times 2,97) + 981 \\
 &= 8,91 + 981 \\
 &= 989,91 \mu\text{S}
 \end{aligned}$$

Substitusi ke persamaan regresi yang diperoleh dari Gambar L.3.1:

$$\begin{aligned}
 y &= 162x + 981 \\
 989,91 &= 162x + 981 \\
 989,91 - 981 &= 162x \\
 8,91 &= 162x \\
 &= \frac{8,91}{162}
 \end{aligned}$$

$$x = 0,06 \text{ ppm (batas deteksi diazinon)}$$

Perhitungan koefisien varians pada diazinon

$$KV = \frac{2,571 \times 2,91}{\sqrt{7}}$$

$$KV = 2,83$$

Tabel L.3.6 Hasil olah standar deviasi blanko ($S_B = S_y/x$) malathion

x	y_i	\hat{y}	$ y_i - \hat{y} $	$(y_i - \hat{y})^2$
0	949	951	2	4
0,005	951	952	1	1
0,01	953	953	0	0
0,025	957	955	2	4
0,05	960	958	2	4
0,075	963	962	1	1
0,1	964	966	2	3
total				18
standar deviasi				1,89

Perhitungan batas deteksi diazinon:

$$\begin{aligned}
 y &= (3 \times S_B) + y_B \\
 &= (3 \times 1,89) + 951 \\
 &= 5,67 + 951 \\
 &= 956,67 \mu\text{S}
 \end{aligned}$$

Substitusi ke persamaan regresi yang diperoleh dari Gambar L.3.1:

$$y = 144x + 951$$

$$956,67 = 144x + 951$$

$$956,67 - 951 = 144x$$

$$5,67 = 162x$$

$$= \frac{5,67}{144}$$

$$x = 0,04 \text{ ppm (batas deteksi malathion)}$$

Perhitungan koefisien varians pada diazinon

$$KV = \frac{2,571 \times 1,89}{\sqrt{7}}$$

$$KV = 1,84$$

