

Validasi Metode Kromatografi Gas-Spektrometri Massa untuk Analisis Residu Pestisida Triadimefon dalam Kubis

Devi RATNASARI*, Riesta PRIMAHARINASTITI, Noor ERMA NASUTION S

Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga

Corresponding author : deviratnasari29@yahoo.com

A simple, rapid, and economical method was developed for determination of triadimefon in cabbage using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). This research aimed to determine of value of validation parameter such as resolution (R_s), coefficient of correlation (r), V_{xo} , limit of detection and limit of quantitation, percent recovery, and relative of standar deviation. This separation was performed by GC Agilent Technologies 6890 N, equipped with 19091j-413 HP-5 30,0 m x 320 μ m x 0,25 μ m column and using helium as carrier gas. The initial temperature of the oven was 75 °C held to 3 minutes and then increased at rate 25 °C/minutes to 180 °C and increased again at rate 5 °C to 300 °C held to 3 minutes for approximately 34,20 minutes analysing time and the mode is EI (electron impact). The assay was selective with $R_s = 1,97$ and linear in a triadimefon concentration range 10 to 35 ppm with regrestion equation $y = 266961,8282 x - 476247,0233$ ($r = 0,9990$) and $V_{xo} = 2,43$ %. Detection and quantitation limits were 0,03 ppm and 0,09 ppm. The average recoveries of sample were 76,33 % with relative of standar deviation 4,20 %.

Keywords : validation, GC-MS, pesticide, triadimefon, cabbage

PENDAHULUAN

Kubis (*Brassica olerace* var. *Capita*) sering juga disebut kol dan banyak dikonsumsi di Indonesia sebagai sayuran daun diantaranya sebagai labab mentah dan masak (Rahmat, 1994). Salah satu penyakit pada tanaman kubis adalah *Powdery mildew* atau tepung embun yang disebabkan oleh jamur *Erysiphe cruciferarum*. Pengendalian terhadap hama tersebut dengan cara kimiawi yaitu dengan menggunakan fungisida dan salah satu pestisida utama yang digunakan untuk

mencegah penyakit ini adalah triadimefon (Anonim, 1998). Beberapa penelitian terkini mengindikasikan bahwa triadimefon meningkatkan aktivitas motorik. Triadimefon juga mengindikasikan adanya aktivitas karsinogenik (Salama *et al.*, 1997). Triadimefon memiliki batas maksimum residual (BMR) 1 mg/kg, hal ini menjadi dasar perlunya dilakukan analisis residu triadimefon selain juga karena efek toksiknya.

Metode analisis residu pestisida yang banyak digunakan adalah kromatografi gas dan kromatografi cair digabungkan dengan spektrometri massa (Raina, 2011). Metode kromatografi gas dipilih dalam penelitian ini karena mampu mencapai sensitivitas tinggi selain KCKT, gas pembawa tidak bervariasi dan tidak membutuhkan pembuangan dan meskipun helium digunakan sebagai gas pembawa lebih murah dibandingkan dengan pelarut organik yang digunakan dalam KCKT (Watson, 2007).

Validasi pada metode analisis kimia terdiri dari beberapa seri percobaan laboratorium yang tujuannya untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan telah memenuhi beberapa persyaratan yang telah ditetapkan terlebih dahulu (USP, 2009). Validasi metode pada analisis residu pestisida triadimefon dalam kubis perlu dilakukan karena adanya perbedaan sampel yang digunakan serta adanya pengembangan proses ekstraksi pada penelitian yang dipublikasikan oleh Lehotay *et al.*, (2005). Tujuan penelitian ini yaitu menentukan harga parameter validasi KG-SM untuk analisis residu triadimefon dalam kubis. Parameter validasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah selektifitas, linearitas, LOD dan LOQ, akurasi dan presisi.

BAHAN DAN METODE

Bahan. triadimefon p.a (Sigma-Aldrich; 99.8 %), aseton p.a (Merck; > 99.5 %), etil asetat p.a (Mallinckrodt; 99.9 %), Na₂SO₄ anhidrat p.a (Riedel-de Haen; > 99 %), NaCl p.a (Merck; ≥ 99.9 %), kubis (seluruh bagian daun kubis).

Alat. KG-SM (KG Agilent Technologies 6890 N, kolom kapiler Agilent 19091j-413 HP-5 30,0 m x 320 µm x 0,25 µm; SM Agilent Technologies 5973 *Inert Mass Selective Detector*; *Autosampler Injector* Agilent Technologies 7683 Series G2613A), timbangan mikro (*Microgram Balance* Mettler Toledo AB204-S), mikropipet (Thermo Scientific FJ76476), sonikator (Sakura US – 10E).

Metode Ekstraksi Sampel Kubis.

Tahap ekstraksi sampel kubis dilakukan dengan mencuci kubis terlebih dahulu, kemudian ditiriskan selama 5 menit, setelah itu dihomogenkan dan ditimbang 20 gram dalam Erlenmayer serta ditambahkan 20,0 mL etil asetat. Erlenmayer ditutup rapat dan disonikasi selama 10 menit. Setelah itu, dilakukan penyaringan gravitasi menggunakan corong dan kertas saring, kemudian filtrat ditampung dalam tabung reaksi. Filtrat kemudian ditambahkan 2 gram NaCl dan diaduk dengan batang pengaduk hingga

nampak fase air dan fase organik memisah. Fase organik kemudian dipindahkan ke tabung reaksi lain dan ditambah dengan 2 gram Na₂SO₄ anhidrat. Fase organik yang benar-benar telah bebas air tersebut kemudian diuapkan menggunakan penangas air pada suhu 70 °C sambil dialiri dengan gas N₂ hingga kering. Selanjutnya bila hasil ekstraksi akan disuntikkan ke dalam KG-SM maka ditambahkan pelarut aseton 1,0 ml dan disonikasi sampai seluruh hasil ekstraksi larut.

Kondisi Percobaan. Kondisi KG-SM temperatur inlet 280 °C, kecepatan gas pembawa 1,3 mL/ menit, suhu oven (suhu awal 75 °C selama 3 menit kemudian dinaikan 25 °C/menit sampai 180 °C, dinaikan lagi 5 °C/menit sampai 300 °C kemudian dipertahankan selama 3 menit), suhu detektor 250 °C, *splitless* injector dan digunakan mode EI (electron impact).

Parameter Validasi. Parameter validasi yang akan ditentukan adalah selektivitas, linearitas, LOD dan LOQ, akurasi, presisi. Penentuan akurasi dilakukan dengan menambahkan larutan standar konsentrasi 20 ppm ke dalam matriks kubis dan dibuat enam kali replikasi. Selanjutnya hasil ekstraksi disuntikkan 1,0 µL ke dalam KG-SM. Harga % *recovery* dihitung dengan

membandingkan konsentrasi triadimefon yang terdeteksi dengan konsentrasi triadimefon yang sebenarnya. Presisi ditentukan dengan menghitung harga relatif standar deviasi (RSD) dari kromatogram yang dihasilkan pada tahap akurasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Harga parameter validasi yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Selektivitas

Kromatogram hasil ekstraksi matriks kubis tanpa penambahan larutan baku triadimefon terlihat pada gambar 1. Kromatogram tersebut (gambar 1) menunjukkan bahwa tidak ada puncak-puncak pengganggu di waktu retensi triadimefon ($t_R = 12,75$ menit). Kromatogram hasil ekstraksi matriks kubis dengan penambahan larutan baku triadimefon terlihat pada gambar 2. Kromatogram tersebut (gambar 2) menunjukkan adanya puncak di waktu retensi triadimefon $t_R = 12,74$ menit dan diperoleh harga derajat keterpisahan (R_s) triadimefon dengan puncak terdekat yang memiliki $t_R 12,59$ menit adalah 1,97. Data tersebut menunjukkan bahwa puncak triadimefon terpisahkan dengan baik dari komponen-komponen lain dalam matriks

kubis. Hal ini menunjukkan bahwa metode ini bersifat selektif, karena karena nilai $R_s > 1,5-2,0$ (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

Pembuktian bahwa analit yang muncul pada t_R 12,74 (gambar 2) adalah benar triadimefon maka dilihat hasil spektrum massa dan dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat pada *library* dari alat. Gambar spektrum massa beserta *library match* untuk kromatogram triadimefon yang terdapat dalam matriks kubis terlihat pada (gambar 3) yang menunjukkan bahwa analit yang muncul pada t_R 12,74 menit adalah triadimefon dengan *quality* 96 %.

b. Linearitas

Tabel 1. Data luas area triadimefon dalam berbagai konsentrasi

Konsentrasi larutan baku triadimefon(ppm)	Luas area triadimefon
10,10	2324110
15,15	3506111
20,20	4773479
30,30	7769647
35,35	8904877

Persamaan regresi :

$$y = 266961,8282 x - 476247,0233$$

$$r = 0,9990$$

$$V_{x0} = 2,43 \%$$

Diketahui bahwa nilai $r_{\text{tabel}} (\alpha = 0,05; n = 5) = 0,878$

Harga r yang diperoleh lebih besar dari r tabel ($\alpha = 0,05; n = 5) = 0,878$ dan harga V_{x0} yang diperoleh juga dibawah 5 %. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi triadimefon terhadap luas area triadimefon terbukti linier (AOAC, 2002).

c. LOD dan LOQ

Berdasarkan hasil perhitungan, maka diperoleh hasil bahwa nilai LOD triadimefon 0,03 ppm dan LOQ 0,09 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa batas minimum konsentrasi triadimefon yang dapat terdeteksi adalah 0,03 ppm dan batas minimum konsentrasi yang dapat memenuhi kriteria penerimaan akurasi dan presisi adalah 0,09 ppm. Penelitian lain yang dilakukan oleh Alder *et al.*, tahun 2006 diperoleh hasil bahwa LOQ triadimefon yang dianalisis menggunakan KG – SM sebesar 0,1 ppm. Perbedaan LOQ ini dapat disebabkan oleh sensitivitas alat, kondisi KG – SM, dan juga aliran listrik pada saat analisis. Data LOQ ini digunakan untuk memastikan bahwa konsentrasi analit yang akan dianalisis pada KG – SM dapat terdeteksi. Konsentrasi triadimefon yang ditambahkan dalam proses ekstraksi sebesar 20 ppm, kondisi ini sesuai karena konsentrasi tersebut lebih besar dari nilai LOD dan LOQ.

d. Akurasi dan Presisi

Tabel 2. Data hasil penentuan akurasi (% *recovery*) dan presisi (RSD) triadimefon dalam sampel kubis

Replikasi	Kadar sebenarnya (ppm)	Kadar diperoleh (ppm)	% <i>recovery</i>
1	20,20	14,96	74,06 %
2	20,20	15,53	76,88 %
3	20,20	16,39	81,14 %
4	20,20	14,73	72,92 %
5	20,20	15,93	78,86 %
6	20,20	14,97	74,11 %
Rata-rata			76,33 %
SD			3,21
RSD			4,20 %

Hasil percobaan diperoleh data rata – rata % *recovery* triadimefon dalam matriks kubis sebesar 76,33 %. Nilai tersebut memenuhi kriteria penerimaan % *recovery* yaitu 70% - 120 % (Pihlstrom, 2009). Nilai presisi diperoleh dengan menghitung nilai relatif standar deviasi (RSD) yang dihasilkan dari penentuan % *recovery*. Nilai RSD yang diperoleh sebesar 4,20 %. Nilai tersebut memenuhi persyaratan validasi untuk presisi yaitu RSD < 20 % (Pihlstrom, 2009). Hasil % *recovery* dan RSD tersebut menunjukkan bahwa perolehan kembali konsentrasi triadimefon dalam kubis yang telah melalui proses ekstraksi dan dianalisis dengan KG –SM adalah 76,33 % ± 4,20 % dari konsentrasi triadimefon yang sebenarnya dalam kubis.

KESIMPULAN

Berdasarkan nilai parameter validasi yang diperoleh dalam penelitian dapat disimpulkan bahwa metode KG –SM untuk analisis residu pestisida triadimefon dalam sampel kubis terbukti valid, karena seluruh parameter validasi memenuhi persyaratan validasi. Metode ini selanjutnya dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk penetapan kadar residu pestisida triadimefon dalam sampel kubis yang beredar di pasaran.

UCAPAN TERIMAKASIH

Project Grand 2012 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang diketuai oleh Riesta Primaharinastiti beserta tim.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2009. General Chapter. *In* : Williams, Roger L., Akers, James E., Amidon, Gregory E. *The United States Pharmacopeia 32 The National Formulary 27*. Rockville: The United State Pharmacopeial Convention, Inc.
- Anonim, 1998. *Guideline on Good Plant Protection Practice Vegetable Brassica PP 2/7 (1) English*. Paris : European and Mediterranean Plant Protection Organization.

AOAC, 2002. *AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for dietary Supplements and Botanicals*. Diakses dari www.aoac.org/Official_Methods/sl_v_guidelines.pdf, pada tanggal 16 Januari 2012.

Lehotay, Steven J., Andre de kok., Maurice Hiemstra, Peter van Bodregaven., 2005. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetable using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometry Detection. *Journal of AOAC International*, vol 8, p.595-613.

Raina, R., 2011. Chemical Analysis of Pesticides Using GC/MS, GC/MS/MS, and LC/MS/MS. *University of Regina, Department of Chemistry & Biochemistry and Trace Analysis Facility*. P. 105-106.

Rukmana, Rahmat., 1994. *Bertanam kubis*. Yogyakarta: Kanisius.

Salama, A.K., Al-Rokaibah, A.A., Al-Ghomiz, N.M., and Soliman, S.A., 1997. Persistence of triadimefon

residue in vegetable fruit grown in green house : A study demonstrating hazard of pesticide misuse in Saudi Arabia. *J. King Saud Univ.*, Vol. 9, Agric. Sci (1), pp. 177-186.