

Optimasi Metode Analisis Pestisida Diazinon dan Klorantraniliprol menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Marselina Theresia DjueTea¹⁾, Akmad Sabarudin²⁾, Hermin Sulistyarti^{2)*}

¹⁾ Program Magister Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

²⁾ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

Diterima 4 Agustus 2017, direvisi 23 Oktober 2017

ABSTRAK

Metode penentuan diazinon dan klorantraniliprol telah dikembangkan. Penentuannya menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan detektor UV. Kondisi optimum untuk pemisahan kedua pestisida adalah komposisi Asetonitril:Air (60:40), laju alir 0,4 mL/min, dan pada panjang gelombang 220 nm. Semakin banyak jumlah asetonitril dalam campuran eluen maka waktu retensi senyawa dalam kolom semakin cepat. Waktu retensi masing-masing senyawa, klorantraniliprol 9,927 dan diazinon 18,957. Linearitas larutan standar diazinon yang cukup baik pada konsentrasi 1-25 ppm dengan R^2 mendekati 1 yaitu 0,9976 sedangkan standar klorantraniliprol pada konsentrasi 0,2-5 ppm dengan R^2 mendekati 1 yaitu 0,9972. Limit deteksi (LOD) diazinon sebesar 1,19 ppm dan klorantraniliprol sebesar 0,39 ppm, sedangkan limit quantifikasi (LOQ) diazinon sebesar 3,98 ppm dan klorantraniliprol sebesar 1,29 ppm.

Kata Kunci: KCKT, Pestisida, Diazinon, Klorantraniliprol

ABSTRACT

Methods of diazinone and chlorantraniliprol have been developed. The discovery uses high performance liquid chromatography using a UV detector. The optimum conditions for the separation of the two pesticides are Acetonitrile:Water (60:40), 0.4 mL/min flow rate, and 220 nm wavelength. The more the amount of acetonitrile in the eluent mixture the compound retention time in the column becomes faster. The retention time of each compound, chlorantraniliprol 9,927, and diazinon 18,957. Linearity of standard diazinon solution is good enough at concentrations of 1-25 ppm with R^2 close to 1 is 0.9976 while chlorantraniliprol standard at concentrations of 0.2-5 ppm with R^2 close to 1 is 0.9972. The detection limit (LOD) of diazinon was 1.19 ppm and chlorantraniliprol was 0.39 ppm, while the diazinon quantification (LOQ) limit of 3.98 ppm and chlorantraniliprole was 1.29 ppm.

Keywords: HPLC, Pesticide, Diazinon, Chloranthraniliprole

PENDAHULUAN

Meningkatnya kualitas dan kuantitas hasil pertanian mendorong penggunaan pestisida yang lebih banyak. Hal tersebut mengakibatkan pestisida banyak ditemukan dalam tanah [1]. Penggunaan pestisida berdampak negatif bagi lingkungan dan manusia. Dampak penggunaan pestisida bagi lingkungan dapat menyebabkan

tertumpuknya sisa pestisida dalam tanah yang membutuhkan waktu lama untuk terdegradasi sehingga menimbulkan pencemaran tanah dan menyebabkan turunnya biodiversitas organisme dalam tanah [2]. Sisa pestisida dalam tanah dapat masuk ke dalam air tanah dan sampai ke sumber mata air yang dikonsumsi oleh manusia dan juga petani yang berinteraksi langsung dengan pestisida dalam jangka waktu lama akan menimbulkan efek buruk bagi kesehatan, antara lain kanker, depresi, gangguan pernapasan, efek neurologik dan penyakit dermatologi [2].

Diazinon merupakan insektisida organofosfat

*Corresponding author:

E-mail: marselina.yunitea@gmail.com

dengan bobot molekul 304,35 g/mol, dengan titik didih 83–94°C, tekanan uap $4,6 \times 10^{-5}$ mmHg pada suhu 10°C, $1,4 \times 10^{-4}$ mmHg pada suhu 20°C, dan $1,1 \times 10^{-3}$ mmHg pada suhu 40°C, kelarutan dalam air 0,004% pada suhu 20°C dan larut dalam pelarut organik. Struktur diazinon dengan nama kimianya O,O-dietil-O-(2-isopropil-6-metil-4-4-pirimidil) fosforotioat. Diazinon menyerap sinar UV pada panjang gelombang 247 nm [3].

Klorantraniliprol dengan modus aksi baru yang disebut “*Ryanodine Receptors Activators*” [4][5] dan bersifat racun perut dan racun kontak. Cara kerja klorantraniliprol adalah dengan mengganggu saraf otot dengan mengaktifkan reseptor rianodin serangga yang menyebabkan berkurangnya ion kalsium intraselular sehingga mengakibatkan kelumpuhan otot dan kematian pada serangga. Gejala yang ditunjukkan oleh serangga akibat aplikasi insektisida klorantraniliprol adalah paralisis, berhenti makan dan dalam beberapa hari dapat menyebabkan kematian [4]. Klorantraniliprol dengan nama kimia 3-bromo-N-[4-chloro-2-methyl-6-[(methyl amino) carbonyl] phenyl]-1-(3-chloro-2-pyridinyl)-1H-pyrazole-5-carboxamide. Klorantraniliprol menyerap sinar UV pada panjang gelombang 260 nm [6].

Teknik ekstraksi padat-cair yang digunakan dalam penentuan sisa pestisida dalam tanah, dilakukan dengan menggunakan pelarut organik kemudian diikuti dengan prosedur pembersihan sebelum dianalisis dengan metode kromatografi. Kelemahan dari metode ini adalah penggunaan pelarut dalam jumlah besar dan waktu yang lama, namun hal tersebut dapat diatasi dengan metode ekstraksi lain yaitu *Ultrasonic Solvent Extraction* (USE) [7]. USE memiliki beberapa keuntungan yaitu kecepatan, selektivitas dan rendahnya penggunaan pelarut. USE meningkatkan efisiensi ekstraksi namun karena selektivitasnya rendah maka dilanjutkan dengan *clean up* untuk memperoleh ekstrak yang bersih [7]. Fungsi deteksi dan kuantifikasi residu pestisida digunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Kromatografi adalah metode dimana komponen campuran dipisahkan pada kolom adsorbent dalam sistem alir. Jenis molekul dalam sampel yang akan dipisahkan terdiri dari analit dan matriks. Untuk pemisahan kromatografi, sampel dimasukkan dalam fase gerak yang mengalir melewati fase diam [8].

Semua teknik kromatografi menggunakan fase gerak berupa cairan, dan mungkin kromatografi

cair kinerja tinggi (KCKT) adalah yang paling dikenal. KCKT digunakan untuk analisis beberapa senyawa yang termolabil atau sangat polar dan juga pada senyawa dengan berat molekul yang tinggi. Keberhasilan suatu analisis juga sangat dipengaruhi oleh ketepatan kromatografer dalam memilih dan menggunakan kolom dan komposisi eluen untuk mendapatkan nilai selektivitas yang besar sehingga interaksi antara analit, fase diam dan fase gerak dapat maksimal [9].

Metode KCKT merupakan suatu metode analisis yang akurat dan sensitif untuk pemisahan dan penentuan secara kualitatif maupun kuantitatif untuk senyawa yang tidak mudah menguap. Keuntungan pemisahan dengan KCKT dibandingkan dengan metode konvensional antara lain waktu analisis yang cepat, biaya yang murah, dan mampu menganalisis senyawa dengan stabilitas rendah [10]. Metode analisis terkait kandungan sisa pestisida yang pernah dilakukan yaitu penentuan residu pestisida klorantraniliprol menggunakan metode *solid phase extraction* (SPE) dan KCKT menggunakan detektor UV pada panjang gelombang 260 nm, metode ini memiliki limit deteksi 200 pg dan % *recovery* lebih dari 97% [6]. Penentuan residu pestisida diazinon dalam sampel air dan tanah menggunakan KCKT menggunakan detektor UV pada panjang gelombang 245 nm, metode ini memiliki limit kuantifikasi pada sampel air 0.1 ng/ml sedangkan pada sampel tanah sebesar 1 ng/ml dan % *recovery* berkisar 86 sampai 102 % [11].

Metode analisis residu yang dikembangkan dalam penelitian ini menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Tahap pertama akan dilakukan beberapa optimasi, yaitu optimasi laju alir, optimasi panjang gelombang dan optimasi komposisi eluen yang akan digunakan. Optimasi dilakukan agar diperoleh hasil pemisahan yang optimum. Tahap kedua dilakukan uji validitas, yaitu uji linearitas, uji akurasi, uji presisi, *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantification* (LOQ). Validasi dilakukan untuk menguji kevalidan metode KCKT yang digunakan untuk analisis pestisida.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat. Asetonitril (KCKT grade), standar diazinon (DZN) dan standar klorantraniliprol (CAP). Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi cair

kinerja tinggi (KCKT) (Shimadzu Corporation, Kyoto Japan), detektor UV, kolom LiChOCHART 100 RP-8, 10 μ l (250x4).

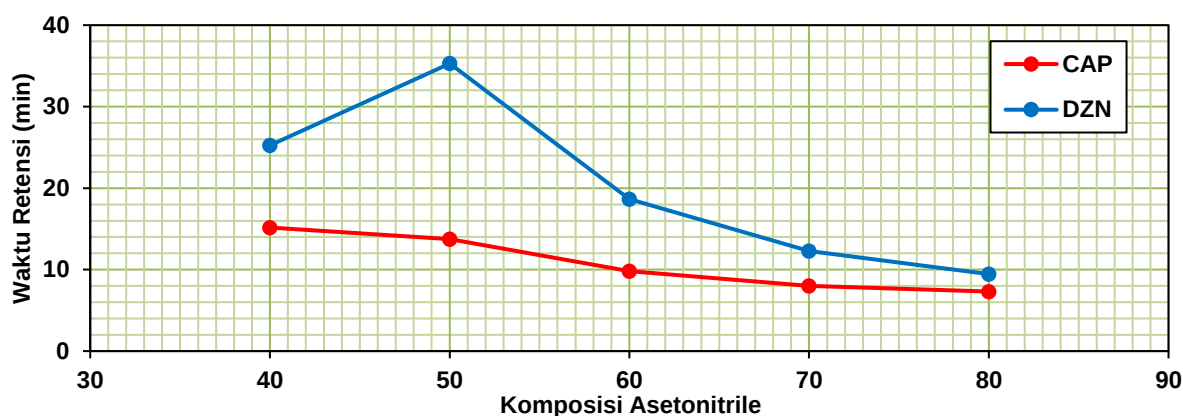
Prosedur Penelitian. Standar diazinon dipreparasi melalui proses pengenceran menggunakan pelarut asetonitril sampai diperoleh larutan standar diazinon dengan konsentrasi 25 ppm. Standar klorantraniliprol dipreparasi melalui proses pelarutan dan pengenceran menggunakan pelarut asetonitril sampai diperoleh larutan standar klorantraniliprol dengan konsentrasi 5 ppm. kedua larutan standar dicampur dengan konsentrasi masing-masing 25 ppm standar diazinon dan 5 ppm standar klorantraniliprol.

Analisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dengan komposisi eluen Asetonitril:Air (60:40), laju alir 0,4

mL/min, dan panjang gelombang 240 nm. Optimasi metode yang digunakan antara lain laju alir, panjang gelombang dan komposisi eluen, untuk mendapatkan kondisi optimum KCKT untuk pemisahan senyawa pestisida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pelarut yang digunakan dalam pemisahan tiga senyawa pestisida ini adalah asetonitril dan air. Komposisi asetonitril berpengaruh terhadap waktu retensi dari tiga senyawa pestisida yang dipisahkan dimana semakin banyak pelarut asetonitril yang digunakan maka waktu retensi senyawa semakin cepat. Hal ini disebabkan oleh kolom yang digunakan bersifat nonpolar dan pelarutnya polar, sehingga senyawa yang bersifat lebih nonpolar akan tertahan lebih lama di kolom.

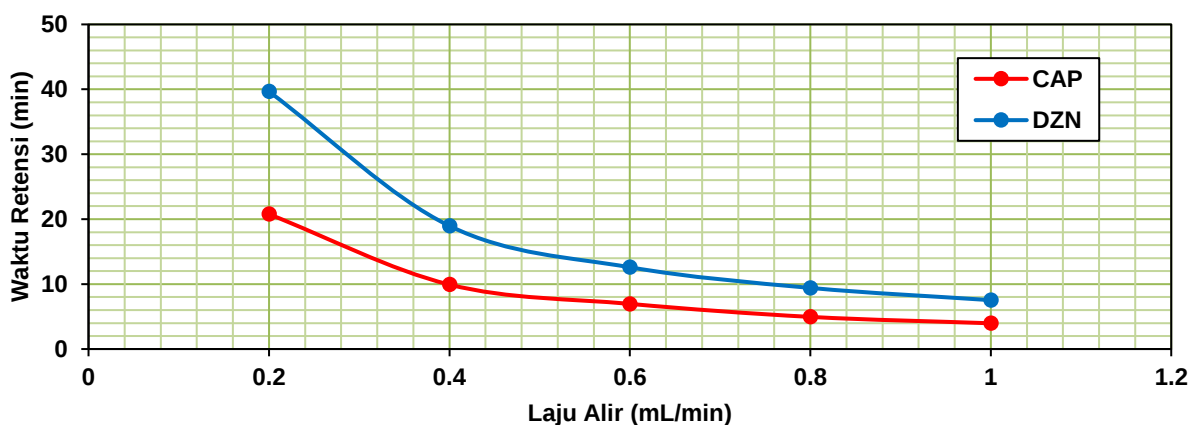


Gambar 1. Pengaruh komposisi asetonitril terhadap laju alir.

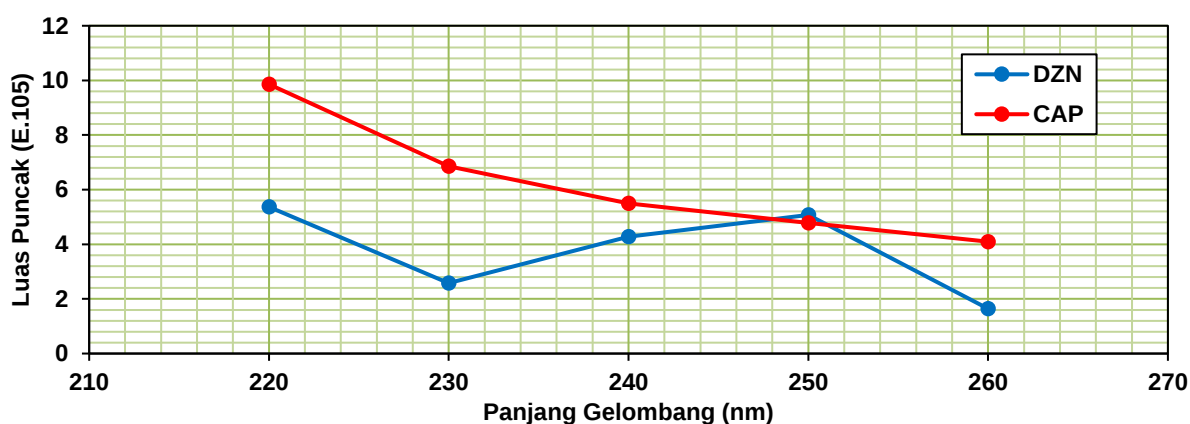
Berdasarkan pengoptimasian komposisi pelarut digunakan pestida yang dijual dipasaran yaitu diazinon 10 gr dengan bahan aktif diazinon sebanyak 10% dan klorantraniliprol diphont prevathon. dengan kondisi pemisahan: kolom C-8 250x4; laju alir: 0,4 mL/min; V.sampel 2 μ L; fase gerak Asetonitril:Air (60:40); λ 240 nm. Berdasarkan Gambar 1 komposisi asetonitril yang menunjukkan pemisahan kedua senyawa pestisida dengan komposisi eluen asetonitril:air yang baik adalah 60:40 dengan waktu retensi masing-masing senyawa, klorantraniliprol 9.8 dan diazinon 18.64. Kedua senyawa terpisah dengan baik dan waktu retensi yang tidak terlalu lama.

Optimasi laju alir menunjukkan tingkat kecepatan aliran zat tertentu persatuan waktu.

Optimasi laju alir menggunakan lima variasi waktu yaitu 0,2 mL/min; 0,4 mL/min; 0,6 mL/min; 0,8 mL/min; 1,0 mL/min. Optimasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kondisi laju alir optimum dan juga dilakukan untuk mengetahui apakah dengan perubahan laju alir akan berpengaruh linear terhadap perubahan waktu retensi dalam pemisahan diazinon dan klorantraniliprol. Gambar 2 menunjukkan hasil pemisahan diazinon dan klorantraniliprol dengan lima variasi laju alir. Laju alir bernilai linear dengan waktu retensi, yaitu semakin cepat laju alir maka waktu retensi yang diperlukan juga semakin cepat dalam pemisahan diazinon dan klorantraniliprol. Kondisi optimum diperoleh pada laju alir 0,4 mL/min.



Gambar 2. Pengaruh laju alir terhadap waktu retensi standar diazinon dan klorantraniliprol.



Gambar 3. Pengaruh panjang gelombang terhadap luas area standar diazinon dan klorantraniliprol.

Optimasi panjang gelombang dilakukan pada lima titik sesuai dari hasil scanning panjang gelombang menggunakan UV-Vis yaitu, diazinon pada 245 nm sedangkan klorantraniliprol 237 nm. Proses optimasi panjang gelombang, dilakukan pada lima titik yaitu 220 nm, 230 nm, 240 nm, 250 nm dan 260 nm. Berdasarkan Gambar 3 yang merupakan hasil pemisahan diazinon dan klorantraniliprol pada lima titik panjang gelombang dengan kondisi pemisahan: kolom C-8 250×4; laju alir: 0,4 mL/min; V sampel 2 µL; Fase gerak Asetonitril:Air (60:40); λ 240 nm.

Panjang gelombang berpengaruh terhadap intensitas puncak kromatogram, untuk intensitas diazinon mengalami penurunan pada panjang gelombang 230 nm dan 260 nm, sedangkan untuk intensitas klorantraniliprol mengalami penurunan seiring dengan kenaikan panjang gelombang. Panjang gelombang optimum untuk diazinon maupun klorantraniliprol berada pada panjang gelombang 220 nm karena lebih menunjukkan

sensitivitas yang tinggi dibandingkan pada panjang gelombang yang lain, sehingga kedua komponen (diazinon dan klorantraniliprol) dapat terdeteksi.

Validasi metode analisis KCKT diperoleh tingkat linearitas larutan standar diazinon yang cukup baik pada konsentrasi 1-25 ppm dengan R^2 mendekati 1 yaitu 0,9976 sedangkan standar klorantraniliprol pada konsentrasi 0,2-5 ppm dengan R^2 mendekati 1 yaitu 0,9972. Limit deteksi (LOD) diazinon sebesar 1,19 ppm dan klorantraniliprol sebesar 0,39 ppm, sedangkan limit quantifikasi (LOQ) diazinon sebesar 3,98 ppm dan klorantraniliprol sebesar 1,29 ppm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa waktu retensi masing-masing senyawa, klorantraniliprol 9,927 dan diazinon 18,957. komposisi optimum untuk pemisahan senyawa pestisida adalah

Asetonitril:Air (60:40), pada laju alir 0,4 mL/min, dengan panjang gelombang UV 220 nm. Linearitas larutan standar diazinon yang cukup baik pada konsentrasi 1-25 ppm dengan R^2 mendekati 1 yaitu 0,9976 sedangkan standar klorantraniliprol pada konsentrasi 0,2-5 ppm dengan R^2 mendekati 1 yaitu 0,9972. Limit deteksi (LOD) diazinon sebesar 1,19 ppm dan klorantraniliprol sebesar 0,39 ppm, sedangkan limit quantifikasi (LOQ) diazinon sebesar 3,98 ppm dan klorantraniliprol sebesar 1,29 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sánchez-Brunete, C., Albero, B. dan Tadeo, J.L. (2004) Multiresidue determination of pesticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry detection. *Journal of agricultural and food chemistry*, **52**, 1445–51. <https://doi.org/10.1021/jf0354646>
- [2] Indrianingsih, A., Nisa, K., Wahono, S., Taufika, V., Rosdya, Damayanti, E. et al. (2007) Analisis Residu Pestisida dalam Tanah dan Umbi Bawang Merah di Lahan Pasir Sanden, Bantul, Yogyakarta dengan Kromatografi Gas. *Seminar Nasional Rekayasa Kimia Dan Proses 2007 ISSN: 1411-4216*, hal. 181–5.
- [3] Hartanti, E., Mahatmanti, F. dan Susatyo, E. (2012) Sintesis Kitosan Bentonit Serta Aplikasinya Sebagai Penurun Kadar Insektisida Jenis Diazinon. *Indonesian Journal of Chemical Science*, **1**, 111–5.
- [4] Cordova, D., Benner, E.A., Sacher, M.D., Rauh, J.J., Sopa, J.S., Lahm, G.P. et al. (2006) Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **84**, 196–214. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.07.005>
- [5] Lahm, G.P., Selby, T.P., Freudenberger, J.H., Stevenson, T.M., Myers, B.J., Seburyamo, G. et al. (2005) Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15**, 4898–906. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.08.034>
- [6] Li, J., Li, Y., Xu, D., Zhang, J., Wang, Y. dan Luo, C. (2017) Determination of metrafenone in vegetables by matrix solid-phase dispersion and HPLC-UV method. *Food Chemistry*, Elsevier Ltd. **214**, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.061>
- [7] Lesueur, C., Gartner, M., Mentler, A. dan Fuerhacker, M. (2008) Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Talanta*, **75**, 284–93. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.11.031>
- [8] Moldoveanu, S. dan David, V. (2012) Essentials in Modern HPLC Separations. Elsevier, USA.
- [9] Rouessac, F. dan Rouessac, A. (2007) Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques. 2nd Editio. Wiley, Paris.
- [10] Nurhamidah. (2005) Penentuan kondisi optimum HPLC untuk pemisahan residu pestisida imidakloprid, profenofos dan deltametrin pada cabai (*Capsicum annum*). *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*, **7**, 87–93.
- [11] Sánchez, M.E., Méndez, R., Gómez, X. dan Martín-Villacorta, J. (2003) Journal of Liquid Chromatography & Related Determination of Diazinon and Fenitrothion in Environmental Water and Soil Samples by HPLC. *Liquid Chromatography and Related Technologies*, **26**, 483–97.