

Kualitas tanah — Penetapan pestisida organoklorin melalui kromatografi gas dengan deteksi selektif massa (GC-MS) dan kromatografi gas dengan deteksi penangkap elektron (GC-ECD)

(ISO 23646:2022, IDT)

Pengguna dari RSNI ini diminta untuk menginformasikan adanya hak paten dalam dokumen ini, bila diketahui, serta memberikan informasi pendukung lainnya (pemilik paten, bagian yang terkena paten, alamat pemberi paten dan lain-lain).

Daftar isi

Daftar isi	i
Prakata	iv
Pendahuluan	v
1 Ruang lingkup	1
2 Acuan normatif	2
3 Istilah dan definisi	3
4 Prinsip	4
5 Interferensi	4
5.1 Interferensi pada pengambilan sampel dan ekstraksi	4
5.2 Interferensi terhadap GC	4
6 Catatan keamanan	5
7 Reagen	5
7.1 Umum	5
7.2 Reagen untuk ekstraksi	5
7.3 Reagen untuk pencucian	5
7.3.1 Pencucian A menggunakan aluminium oksida	5
7.3.2 Pencucian B menggunakan silika gel 60 untuk kromatografi kolom	6
7.3.3 Pencucian C menggunakan kromatografi permeasi gel (GPC)	6
7.3.4 Pencucian D menggunakan Florisil® ²⁾	7
7.4 Reagen untuk analisis kromatografi gas	7
7.5 Standar	7
7.5.1 Umum	7
7.5.2 Standar kalibrasi	7
7.5.3 Standar internal, ekstraksi dan injeksi	7
7.6 Persiapan larutan standar	9
7.6.1 Persiapan larutan standar kalibrasi pestisida organoklorin	9
7.6.2 Persiapan larutan standar internal	10
7.6.3 Persiapan larutan standar injeksi	10
7.6.4 Persiapan larutan untuk pemeriksaan liner	10
8 Peralatan	10
8.1 Prosedur ekstraksi dan pencucian	10
8.2 Kromatografi gas	11
8.2.1 Umum	11
8.2.2 Kolom kapiler	11
9 Penyimpanan sampel dan perlakuan awal	11
9.1 Penyimpanan sampel	11

9.2	Perlakuan awal sampel	12
10	Prosedur	12
10.1	Uji Blanko	12
10.2	Ekstraksi	12
10.2.1	Umum	12
10.2.2	Prosedur ekstraksi 1 — Agitasi atau sonikasi	13
10.2.3	Prosedur ekstraksi 2 — <i>Pressurized Liquid Extraction</i> (PLE)	14
10.2.4	Prosedur ekstraksi 3 — <i>Soxhlet</i>	14
10.3	Pemekatan	14
10.4	Pencucian ekstrak	15
10.4.1	Umum	15
10.4.2	Pencucian A — Aluminium oksida	15
10.4.3	Pencucian B — Silika gel	16
10.4.4	Pencucian C — Kromatografi permeasi gel	16
10.4.5	Pencucian D — Florisil® ²)	16
10.5	Penambahan standar injeksi	17
10.6	Analisis kromatografi gas (GC)	17
10.6.1	Umum	17
10.6.2	Pengaturan kromatografi gas	17
10.7	Spektrometer massa (Mass Spectrometer/MS)	17
10.7.1	Kondisi spektrometer massa	17
10.7.2	Kalibrasi metode menggunakan standar internal	19
10.7.3	Pengukuran	20
10.7.4	Identifikasi	20
10.7.5	Pengecekan kinerja metode	20
10.7.6	Perhitungan	21
10.8	Deteksi penangkap elektron (ECD)	22
10.8.1	Umum	22
10.8.2	Kondisi ECD	22
10.8.3	Kalibrasi metode menggunakan standar internal	22
10.8.4	Pengukuran	22
10.8.5	Identifikasi	22
10.8.6	Pemeriksaan kinerja metode ECD	23
10.8.7	Perhitungan	23
11	Karakteristik kinerja	24
12	Presisi	24
13	Laporan pengujian	24
	Lampiran A (informatif) Data reipabilitas dan reproduksibilitas	25
	Lampiran B (informatif) Strategi kalibrasi	28

Lampiran C (informatif) Contoh kondisi pengukuran GC-MS/MS untuk pestisida organoklorin.....	29
Bibliografi.....	31
Tabel 1 – Matriks yang masuk dalam ruang lingkup dan divalidasi.....	v
Tabel 2 – Senyawa target yang masuk dalam ruang lingkup standar	1
Tabel 3 – Prosedur ekstraksi yang digunakan untuk matriks yang berbeda	13
Tabel 4 – Metode Pencucian.....	15
Tabel 5 – Ion perkiraan untuk pestisida organoklorin yang digunakan dengan deteksi MS ..	18
Tabel A.1 – Bahan yang diuji dalam perbandingan antar laboratorium untuk penentuan pestisida organoklorin dalam tanah.....	25
Tabel A.2 – Hasil studi perbandingan antar laboratorium penentuan pestisida organoklorin oleh GC-MS dan GC-ECD dalam tanah.....	26
Tabel A.3 – Hasil studi perbandingan antar laboratorium penentuan pestisida organoklorin menggunakan GC-ECD dalam sedimen	27
Tabel C.1 – Parameter GC-MS/MS	29

Prakata

SNI ISO 23646:2022, *Kualitas tanah – Penetapan kadar pestisida organoklorin menggunakan kromatografi gas dengan deteksi selektif massa (GC-MS) dan kromatografi gas dengan deteksi penangkap elektron (GC-ECD)*, merupakan standar yang disusun dengan jalur adopsi tingkat keselarasan dari ISO 23646:2022, *Soil quality – Determination of organochlorine pesticides by gas chromatography with mass selective detection (GC-MS) and gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD)*, dengan metode adopsi terjemahan satu bahasa dan ditetapkan oleh BSN Tahun 2024.

Dalam Standar ini istilah *“this document”* pada standar ISO 23646:2022 yang diadopsi diganti dengan *“this Standard”* dan diterjemahkan menjadi “Standar ini”.

Standar ini disusun oleh Komite Teknis 65-23, Sumberdaya Lahan Pertanian. Standar ini telah dibahas melalui rapat teknis dan disepakati dalam rapat pada tanggal 28 Agustus 2024 di Bogor, yang dihadiri oleh para pemangku kepentingan (*stakeholders*) terkait yaitu perwakilan dari pemerintah, pelaku usaha, konsumen, dan pakar. Standar ini telah melalui tahap jajak pendapat pada tanggal 19 September 2024 sampai dengan 3 Oktober 2024 dengan hasil akhir disetujui menjadi XXX.

Apabila pengguna menemukan keraguan dalam Standar ini, maka disarankan untuk melihat standar aslinya, yaitu ISO 23646:2022, dan/atau dokumen terkait lain yang menyertainya.

Perlu diperhatikan bahwa kemungkinan beberapa unsur dari Standar ini dapat berupa hak kekayaan intelektual (HAKI). Namun selama proses perumusan SNI, Badan Standardisasi Nasional telah memperhatikan penyelesaian terhadap kemungkinan adanya HAKI terkait substansi SNI. Apabila setelah penetapan SNI masih terdapat permasalahan terkait HAKI, Badan Standardisasi Nasional tidak bertanggung jawab mengenai bukti, validitas, dan ruang lingkup dari HAKI tersebut.

Pendahuluan

Pestisida organoklorin (OCPs) adalah bahan kimia sintetis yang digunakan secara global. Sebagian besar pestisida organoklorin digunakan sebagai insektisida dalam bidang pertanian. Selain itu, pestisida organoklorin ini juga digunakan untuk produk lain seperti pengawet kayu bangunan. Pestisida organoklorin bersifat persisten, bioakumulasi, dan memiliki mobilitas yang tinggi. Golongan pestisida ini banyak ditemukan di lingkungan seperti air, tanah, sedimen, limbah, ataupun pada produk pertanian sehingga keberadaannya perlu dipantau dan dikendalikan.

Standar ini menjelaskan penentuan pestisida organoklorin pada tanah dan sedimen. Penentuan kadar organoklorin dilakukan dengan beberapa tahapan dimulai dari pengambilan sampel, preparasi awal, ekstraksi, pencucian, hingga pengukuran dengan menggunakan kromatografi gas dengan detektor spektrometri massa (GC-MS) atau kromatografi gas dengan detektor penangkap elektron (GC-ECD). GC MS/MS juga dapat digunakan (lihat Lampiran C untuk sampel kondisi pengukuran GC-MS/MS pada pestisida organoklorin). Selain pestisida organoklorin, Standar ini juga berlaku untuk penentuan *polychlorinated biphenyls* (PCBs). Namun, tersedia Standar Eropa khusus untuk penentuan PCB yaitu EN 17322. Kedua standar tersebut sangat mirip, terdapat perbedaan terutama pada variasi tahap-tahap pencucian PCB yang lebih luas.

Dengan mempertimbangkan perbedaan matriks dan kemungkinan adanya senyawa lain yang muncul, maka Standar ini tidak hanya berisi satu prosedur kerja pengujian. Terdapat beberapa metode dalam setiap tahapan, khususnya berkaitan dengan proses pencucian. Deteksi dengan menggunakan GC-MS dan GC-ECD juga dimungkinkan dalam Standar ini. Terdapat tiga prosedur ekstraksi yang berbeda dan terdapat empat prosedur pencucian. Penggunaan standar internal dan pengecekan hasil pengukuran juga dijelaskan dalam Standar ini untuk verifikasi/validasi internal laboratorium dalam memilih prosedur ekstraksi dan pencucian yang tepat.

Standar ini berlaku dan divalidasi pada beberapa jenis matriks pada Tabel 1 di bawah ini dan pada Lampiran A.

Tabel 1 – Matriks yang masuk dalam ruang lingkup dan divalidasi

Matriks	Bahan yang digunakan untuk validasi
Tanah	Tanah berpasir, terkontaminasi pestisida organoklorin Tanah dari sekitar Berlin
Tanah kaya humus	Tanah kaya humus Tanah komposit dari sekitar Kota Berlin, Jerman dan tanah acuan dari Jerman yang bebas dari PCB
Sedimen	Hasil validasi dari ISO 10382 (WC 102 dan WC 106)

Kualitas tanah – Penetapan pestisida organoklorin melalui kromatografi gas dengan deteksi selektif massa (GC-MS) dan kromatografi gas dengan deteksi penangkap elektron (GC-ECD)

PENTING Sangat penting bahwa pengujian yang dilakukan sesuai dengan Standar ini dilakukan oleh staf terlatih.

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode untuk penentuan kuantitatif pestisida organoklorin (OCPs) dan klorobenzena semi-volatil di tanah dan sedimen, menggunakan GC-MS dan GC-ECD (Tabel 2).

Tabel 2 – Senyawa target yang masuk dalam ruang lingkup standar

Senyawa target	CAS-RN	Rumus molekul
Aldrin	309-00-2	C ₁₂ H ₈ Cl ₆
Dieldrin	60-57-1	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Endrin	72-20-8	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Isodrin	465-73-6	C ₁₂ H ₈ Cl ₆
Telodrin	297-78-9	C ₉ H ₄ Cl ₈ O
Heptaklor	76-44-8	C ₁₀ H ₅ Cl ₇
Heptakloro epoksida (exo-, cis-isomer)	1024-57-3	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O
Heptakloro epoksida (endo-, trans-isomer)	28044-83-9	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O
α-Endosulfan	959-98-8	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
β-Endosulfan	33213-65-9	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
Endosulfan sulfat	1031-07-8	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
p,p'-DDE (1,1-bis-(4-klorofenil)-2,2-dikloroetana)	72-55-9	C ₁₄ H ₈ Cl ₄
o,p'-DDD (1-(2-Klorofenil)-1-(4-klorofenil)-2,2-dikloroetana)	53-19-0	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄
o,p'-DDT (1,1,1-Trikloro-2-(2-klorofenil)-2-(4-klorofenil)etana)	789-02-6	C ₁₄ H ₉ Cl ₄
p,p'-DDD (1,1-Dikloro-2,2-bis(4-klorofenil)etana)	72-54-8	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄
o,p'-DDE (2-(2-Klorofenil)-2-(4-klorofenil)-1,1-dikloroetana)	3424-82-6	C ₁₄ H ₈ Cl ₄
p,p'-DDT (1,1,1-Trikloro-2,2-bis-(4-klorofenil)etana)	50-29-3	C ₁₄ H ₉ Cl ₄
Metoksiklor	72-43-5	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂
HCB Heksaklorobenzena	118-74-1	C ₆ Cl ₆
α-HCH (α-Heksaklorosikloheksana)	319-84-6	C ₆ H ₆ Cl ₆
β-HCH (β-Heksaklorosikloheksana)	319-85-7	C ₆ H ₆ Cl ₆
γ-HCH (γ-Heksaklorosikloheksana)	58-89-9	C ₆ H ₆ Cl ₆
δ-HCH (δ-Heksaklorosikloheksana)	319-86-8	C ₆ H ₆ Cl ₆
Heksakloro-1,3-butadiena	87-68-3	C ₄ Cl ₆
α-Klordan	5103-71-9	C ₁₀ H ₆ Cl ₈
γ-Klordan	5103-74-2	C ₁₀ H ₆ Cl ₈
1,2,4-Triklorobenzena	120-82-1	C ₆ H ₃ Cl ₃

Tabel 2 (lanjutan)

Senyawa target	CAS-RN	Rumus molekul
1,2,3-Triklorobenzena	87-61-6	C ₆ H ₃ Cl ₃
1,3,5-Triklorobenzena	108-70-3	C ₆ H ₃ Cl ₃
1,2,3,4-Tetraklorobenzena	634-66-2	C ₆ H ₂ Cl ₄
1,2,3,5-Tetraklorobenzena	634-90-2	C ₆ H ₂ Cl ₄
1,2,4,5-Tetraklorobenzena	95-94-3	C ₆ H ₂ Cl ₄
Pentaklorobenzena	608-93-5	C ₆ HCl ₅

Batas deteksi dan batas kuantitasi tergantung pada bahan aktif yang diuji, jumlah sampel yang dianalisis, peralatan, kualitas bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi sampel dan proses pencucian ekstrak sampel.

Sesuai kondisi yang ditentukan dalam Standar ini, batas bawah kuantitasi yang dicapai untuk tanah yaitu 1 µg/kg (dinyatakan dalam bobot kering) dan untuk sedimen yaitu 10 µg/kg (dinyatakan dalam bobot kering). Kebutuhan untuk mencapai batas kuantitasi yang lebih rendah tergantung pada urutan tahapan analisis dan nilai batas yang ada saat ini.

Sifat dari tanah dan sedimen dapat berbeda tergantung tingkat kontaminasi pestisida organoklorin dan keberadaan zat pengganggu. Adanya perbedaan sifat tersebut, maka Standar ini tidak dimungkinkan untuk dituangkan dalam satu prosedur umum. Berdasarkan sifat sampel, Standar ini berisi tabel prosedur kerja dengan senyawa berbeda yang membahas prosedur pengeringan, ekstraksi, dan pencucian. Metode ini berdasarkan pada kinerja. Metode tersebut dapat dimodifikasi jika semua kriteria kinerja yang ditetapkan terpenuhi.

Metode ini dapat diterapkan pada analisis senyawa terklorinasi lainnya yang tidak ditentukan dalam ruang lingkup ini, dalam hal kesesuaiannya telah terbukti melalui validasi internal yang tepat.

CATATAN Data validasi ditampilkan dalam Lampiran A. Standar ini divalidasi hanya untuk α-HCH, β-HCH, γ-HCH, δ-HCH, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDT dan p,p'-DDT. Untuk sedimen, data yang ditampilkan diukur menggunakan deteksi ECD. Komparabilitas data ECD dan MS dalam hal pendekatan Standar ini ditunjukkan pada matriks tambahan.

2 Acuan normatif

Dokumen acuan berikut sangat diperlukan untuk penetapan Standar ini. Untuk acuan bertanggung, hanya edisi yang disebutkan yang berlaku. Untuk acuan yang tidak bertanggung, berlaku edisi terbaru dari dokumen acuan tersebut (termasuk seluruh perubahan/amendemennya).

ISO 5667-15, *Water quality – Sampling – Part 15: Guidance on the preservation and handling of sludge and sediment samples*

ISO 8466-1, *Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods – Part 1: Linear calibration function*

ISO 11465, *Soil quality – Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method*

ISO 14507, *Soil quality – Pretreatment of samples for determination of organic contaminants*

ISO 18512, *Soil quality – Guidance on long and short term storage of soil samples*

ISO 22892, *Soil quality – Guidelines for the identification of target compounds by gas chromatography and mass spectrometry*

EN 16179, *Sludge, treated biowaste and soil – Guidance for sample pretreatment*

3 Istilah dan definisi

Untuk tujuan penggunaan Standar ini, berlaku istilah dan definisi berikut.

ISO dan IEC mengelola basis data terminologi untuk digunakan dalam standarisasi pada laman berikut:

- Sistem *online* ISO: tersedia di <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: tersedia di <https://www.electropedia.org/>

3.1

standar kalibrasi

larutan pestisida organoklorin disiapkan dari standar sekunder dan/atau larutan stok pestisida organoklorin murni dan digunakan untuk mengkalibrasi respons instrumen yang berkaitan dengan konsentrasi analit

3.2

standar internal

pestisida organoklorin berlabel atau pestisida organoklorin lain yang tidak mungkin ada dalam sampel, ditambahkan ke sampel sebelum ekstraksi dan digunakan untuk kuantifikasi kandungan pestisida organoklorin

3.3

standar ekstraksi

bahan kimia yang hanya digunakan untuk memeriksa efisiensi ekstraksi dan tidak digunakan untuk tujuan kuantifikasi

3.4

standar injeksi

pestisida organoklorin berlabel atau pestisida organoklorin lain yang tidak mungkin ada dalam sampel, ditambahkan ke ekstrak sebelum injeksi ke dalam kromatografi gas, dan digunakan untuk memantau variabilitas respons instrumen dan perolehan kembali berbagai *standar internal* (3.2)

3.5

standar kerja

satu larutan kalibrasi yang digunakan untuk penentuan *kriteria kerja* (3.6), berisi jumlah yang sama dari berbagai standar internal, ekstraksi, dan *injeksi* (3.4) yang digunakan dalam sampel

3.6

kriteria kerja

nilai perolehan kembali dari standar yang menjelaskan kapasitas metode uji atau bagian dari metode uji

4 Prinsip

Dikarenakan terdapat karakter multi-matriks dalam Standar ini, maka diperbolehkan menggunakan prosedur yang berbeda untuk langkah yang berbeda (modul). Modul yang digunakan sebaiknya tergantung pada sampel. Standar ini juga memberikan rekomendasi modul. Kriteria kerja yang dijelaskan merupakan tanggung jawab laboratorium yang menerapkan Standar ini untuk menunjukkan kriteria tersebut telah terpenuhi. Penggunaan adisi standar (standar internal) diperbolehkan untuk pemeriksaan keseluruhan pada efisiensi kombinasi modul tertentu untuk sampel tertentu. Akan tetapi, tidak selalu memberikan informasi mengenai efisiensi ekstraksi ekstensif dari pestisida organoklorin murni yang terikat pada matriks.

Setelah perlakuan awal, sampel uji diekstraksi dengan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai.

Ekstrak dipekatan dengan proses penguapan. Jika diperlukan, zat pengganggu dihilangkan dengan metode pencucian yang sesuai untuk matriks tertentu, sebelum dilakukan proses pemekatan ini.

Ekstrak dianalisis dengan kromatografi gas. Senyawa dipisahkan menggunakan kolom kapiler dengan fase diam yang memiliki polaritas rendah. Deteksi dilakukan dengan spektrometri massa (MS) atau dengan detektor penangkap elektron (ECD). GC-MS/MS juga dapat digunakan jika kriteria kerja yang dijelaskan (lihat 10.7.5) dan karakteristik kerja (lihat pasal 11) terpenuhi.

Pestisida organoklorin diidentifikasi dan dihitung dengan membandingkan waktu retensi relatif dan ketinggian puncak relatif (atau area puncak) terhadap standar internal yang ditambahkan. Efisiensi prosedur tergantung pada komposisi matriks yang diuji.

5 Interferensi

5.1 Interferensi pada pengambilan sampel dan ekstraksi

Gunakan wadah pengambilan sampel (bahan wadah sebaiknya baja, aluminium atau kaca) yang tidak memengaruhi sampel selama waktu kontak. Hindari plastik dan bahan organik selama pengambilan, penyimpanan, atau ekstraksi sampel. Jauhkan sampel dari sinar matahari langsung dan paparan cahaya yang terlalu lama.

Selama penyimpanan sampel, dapat terjadi kehilangan pestisida organoklorin karena adsorpsi pada dinding wadah. Tingkat kehilangannya tergantung pada waktu penyimpanan.

5.2 Interferensi terhadap GC

Zat yang tidak sepenuhnya terpisah dengan target pestisida organoklorin dapat mengganggu pengujian. Hal ini dapat menyebabkan sinyal tidak muncul dengan sempurna, akurasi dan ketepatan hasil uji tergantung seberapa besar gangguan tersebut. Puncak hasil pengukuran kromatografi yang tumpang tindih tidak memungkinkan untuk dilakukan interpretasi hasil. Puncak asimetris dan puncak yang lebih luas dari puncak zat acuan menunjukkan adanya gangguan.

Pada fase diam yang digunakan, beberapa isomer (misalnya 1,2,4,5- dan 1,2,3,5-Tetraklorobenzena) dapat terjadi elusi secara bersamaan atau tidak sepenuhnya terpisah. Dalam hal ini, hasil positif sebaiknya dilaporkan sebagai jumlah kedua isomer atau fase diam

yang berbeda sebaiknya digunakan untuk memastikan proses pemisahan, yang memungkinkan memberikan hasil tunggal untuk kedua isomer.

6 Catatan keamanan

Beberapa pestisida organoklorin adalah zat beracun dan harus ditangani dengan sangat hati-hati. Hindari kontak dengan bahan padat, pelarut ekstrak dan larutan standar pestisida organoklorin. Sangat dianjurkan agar larutan standar disiapkan secara terpusat oleh laboratorium dengan perlengkapan yang sesuai atau dibeli dari penyedia khusus.

Pelarut dan sampel yang mengandung pestisida organoklorin harus dibuang sesuai aturan pengelolaan limbah beracun.

Untuk penanganan heksana, tindakan pencegahan harus dilakukan karena bersifat neurotoksik.

Tindakan pencegahan harus dilakukan terhadap semua bahaya yang terkait dengan metode ini.

7 Reagen

7.1 Umum

Semua reagen harus *analytical grade*. Kemurnian reagen yang digunakan harus diperiksa dengan uji blanko seperti yang dijelaskan pada 10.1. Blanko harus kurang dari 50% dari batas terendah yang dilaporkan.

7.2 Reagen untuk ekstraksi

7.2.1 Aseton (2-propanon), $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$.

7.2.2 n-heptana, C_7H_{16} .

7.2.3 Petroleum eter, rentang didih 40 °C sampai dengan 60 °C.

7.2.4 Pelarut seperti heksana, rentang didih antara 30 °C dan 89 °C.

7.2.5 Natrium sulfat anhidrat, Na_2SO_4 . Natrium sulfat anhidrat harus disimpan dengan tertutup rapat.

7.2.6 Air suling atau air dengan kualitas setara, H_2O .

7.2.7 Natrium klorida, NaCl , anhidrat.

7.2.8 Pelarut pencegah penguapan. Pelarut organik non-polar dengan titik didih tinggi, seperti oktana, nonana.

7.3 Reagen untuk pencucian

7.3.1 Pencucian A menggunakan aluminium oksida

7.3.1.1 Aluminium oksida, Al_2O_3 .

Basa atau netral, permukaan spesifik 200 m²/g, aktivitas Super I sesuai dengan Referensi [6].

7.3.1.2 Aluminium oksida terdeaktivasi.

Dideaktivasi dengan 10% air.

Tambahkan 10 g air (7.2.6) ke dalam 90 g aluminium oksida (7.3.1.1). Kocok hingga semua gumpalan menghilang. Biarkan aluminium oksida selama sekitar 16 jam sebelum digunakan dalam keadaan tertutup. Gunakan maksimal selama dua minggu.

CATATAN Aktifitas bergantung pada kadar airnya. Jika diperlukan kadar airnya disesuaikan.

7.3.2 Pencucian B menggunakan silika gel 60 untuk kromatografi kolom

7.3.2.1 Silika gel 60, ukuran partikel 63 µm sampai dengan 200 µm.

7.3.2.2 Silika gel 60, kadar air: fraksi massa w(H₂O) = 10%.

Silika gel 60 (7.3.2.1), dipanaskan sekurang-kurangnya selama 3 jam pada suhu 450 °C, didinginkan dan disimpan dalam desikator yang berisi magnesium perklorat atau bahan pengering yang sesuai. Sebelum digunakan, panaskan sekurang-kurangnya selama 5 jam pada suhu 130 °C dalam oven pengering, didinginkan dalam desikator. Kemudian pindahkan dalam labu ukur dan ditambahkan 10% air (fraksi massa). Kocok selama 5 menit secara intensif dengan tangan hingga semua gumpalan larut dan dilanjutkan selama 2 jam dengan alat pengocok. Simpan silika gel yang telah dideaktivasi dalam kondisi kedap udara. Gunakan maksimal selama dua minggu.

7.3.3 Pencucian C menggunakan kromatografi permeasi gel (GPC)

7.3.3.1 Bio-Beads[®] S-X3.

7.3.3.2 Etil asetat, C₄H₈O₂.

7.3.3.3 Sikloheksana, C₆H₁₂.

Persiapan GPC, misalnya:

- masukkan 50 g Bio-Beads[®] S-X3 (7.3.3.1) ke dalam labu Erlenmeyer 500 ml dan tambahkan 300 ml campuran eluen yang terdiri dari sikloheksana (7.3.3.3) dan etil asetat (7.3.3.2) 1:1 (volume) supaya *beads* mengembang;
- setelah itu goyang-goyangkan labu Erlenmeyer sebentar hingga tidak ada gumpalan yang tersisa dan dibiarkan tertutup selama 24 jam;
- alirkan *slurry* ke dalam tabung kromatografi untuk GPC;
- setelah tiga hari, dorong *plunger* pada kolom sehingga diperoleh tingkat pengisian sekitar 35 cm;
- untuk lebih memampatkan gel, pompa sekitar 2 l campuran eluen melalui kolom dengan laju aliran 5 ml/min dan dorong *plunger* untuk memperoleh tingkat pengisian sekitar 33 cm.

¹⁾ Bio-Beads[®] merupakan salah satu contoh produk yang sesuai dan tersedia secara komersial. Informasi ini diberikan untuk kemudahan pengguna Standar ini dan bukan merupakan dukungan ISO terhadap produk tersebut. Produk yang ekuivalen dapat digunakan jika menunjukkan hasil yang sama.

7.3.4 Pencucian D menggunakan Florisil®²⁾

7.3.4.1 Florisil®²⁾, dioven selama 2 jam pada suhu 600 °C. Ukuran partikel 150 µm hingga 750 µm.

7.3.4.2 Iso-oktana, C₈H₁₈.

7.3.4.3 Toluena, C₇H₈.

7.3.4.4 Iso-oktana/Toluena 95/5 (fraksi volume).

7.3.4.5 Dietil eter, C₄H₁₀O.

7.4 Reagen untuk analisis kromatografi gas

Gas pembawa untuk kromatografi gas ECD atau MS, dengan kemurnian tinggi dan sesuai dengan spesifikasi pabrik.

7.5 Standar

7.5.1 Umum

Pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan standar harus bebas pestisida organoklorin. Misalnya heksana, siklo-heksana, iso-heksana atau pelarut seperti heksana lainnya. Verifikasi stabilitas standar dilakukan secara rutin.

7.5.2 Standar kalibrasi

Berbagai standar kalibrasi sebaiknya berisi senyawa target yang dipilih dari Tabel 2.

7.5.3 Standar internal, ekstraksi dan injeksi

7.5.3.1 Umum

Untuk standar internal, ekstraksi dan injeksi, pilih bahan yang memiliki sifat fisik dan kimia (misalnya sifat ekstraksi, waktu retensi) yang sama dengan senyawa yang akan dianalisis.

Jumlah standar internal dan ekstraksi tergantung pada strategi kalibrasi saat analisis. Ada tiga kemungkinan yang dapat terjadi (lihat Lampiran B).

- a) Analisis pestisida organoklorin tanpa ada informasi tentang sampel:
 - 1) Standar internal ditambahkan ke sampel sebelum ekstraksi dan digunakan untuk kuantifikasi.
 - 2) Sekurang-kurangnya tiga pestisida organoklorin, mencakup kromatogramnya, harus digunakan sebagai standar internal.
 - 3) Jika diperlukan, standar injeksi ditambahkan ke ekstrak sebelum disuntikkan.
- b) Analisis pestisida organoklorin dengan konsentrasi tinggi:
 - 1) Saat sampel yang sangat terkontaminasi dianalisis, alikuot biasanya digunakan untuk pencucian lebih lanjut. Hal ini membuat biaya analisis yang disebabkan oleh

²⁾ Florisil® merupakan sebuah nama dagang untuk bahan diatomik siap pakai, yang utamanya mengandung magnesium silikat anhidrat. Informasi ini diberikan untuk kemudahan pengguna standar dan bukan merupakan dukungan ISO terhadap produk tersebut. Produk yang ekuivalen dapat digunakan jika menunjukkan hasil yang sama.

penggunaan standar berlabel sangat mahal. Dalam kasus ini, penambahan standar ekstraksi dan internal dapat dilakukan dengan dua cara:

- i. Cara 1: Standar ekstraksi ditambahkan ke sampel sebelum ekstraksi. Efisiensi ekstraksi diperiksa dengan membandingkan standar kerja.
 - ii. Cara 2: Setelah ekstraksi, tambahkan standar internal ke alikuot. Standar internal ini digunakan untuk kuantifikasi.
- 2) Jika diperlukan, standar injeksi ditambahkan ke larutan yang akan diukur sebelum disuntikkan.
- c) Tidak ada kandungan pestisida organoklorin dalam sampel:
- 1) Standar ekstraksi ditambahkan ke sampel sebelum ekstraksi. Efisiensi ekstraksi diperiksa dengan membandingkan standar kerja.
 - 2) Jika diperlukan, standar injeksi ditambahkan ke ekstrak sebelum disuntikkan.
 - 3) Sekurang-kurangnya satu pestisida organoklorin dengan sensitivitas yang sebanding dengan prosedur ekstraksi harus digunakan sebagai standar ekstraksi.

Bahan kimia yang dipertimbangkan sebagai standar internal, ekstraksi dan injeksi tercantum di bawah ini.

Untuk deteksi MS, disarankan menggunakan pestisida organoklorin berlabel.

Pestisida organoklorin lain atau zat serupa, misalnya sampel yang tidak mengandung PCB atau pestisida organoklorin berlabel ¹³C₁₂ yang tidak digunakan sebagai standar internal, dapat digunakan sebagai standar injeksi.

7.5.3.2 Senyawa berlabel

Dari sebagian besar senyawa target yang tercantum dalam Tabel 2, standar berlabel ¹³C tersedia secara komersial. Selain itu, beberapa standar deuterasi juga dapat digunakan.

α-Endosulfan-d4	(CAS-RN-203645-57-2)
β-Endosulfan-d4	(CAS-RN-203716-99-8)
p,p'-DDE-d4 atau -d8	(CAS-RN-93952-19-3)
o,p'-DDT-d4 atau -d8	(CAS-RN-221899-88-3)
p,p'-DDD-d4 atau -d8	(CAS-RN-93952-20-6)
o,p'-DDE-d8	(CAS-RN-1402834-57-4)
p,p'-DDT-d4 atau -d8	(CAS-RN-93952-18-2)
Metoksiklor-d6	(CAS-RN-106031-79-2)
α-HCH-d6	(CAS-RN-86194-41-4)
γ-HCH-d6	(CAS-RN-60556-82-3)
1,2,4-Triklorobenzena-d3	(CAS-RN-2199-72-6)
1,2,3-Triklorobenzena-d3	(CAS-RN-3907-98-3)
1,3,5-Triklorobenzena-d3	(CAS-RN-1198-60-3)
1,2,3,4-Tetraklorobenzena-d2	(CAS-RN-2199-73-7)
1,2,3,5-Tetraklorobenzena-d2	(CAS-RN-2199-74-8)
1,2,4,5-Tetraklorobenzena-d2	(CAS-RN-1198-57-8)
PCB28-d4	
PCB52-d3	
PCB101-d3	
Fenantrena-d10	(CAS-RN-1517-22-2)

7.5.3.3 Senyawa tanpa label

PCB29	2,4,5-triklorobifenil	(CAS-RN 15862-07-4)
PCB30	2,4,6-triklorobifenil	(CAS-RN 35693-92-6)
PCB143	2,2',3,4,5,6'-heksaklorobifenil	(CAS-RN 68194-15-0)

PCB155	2,2',4,4',6,6'-heksaklorobifenil	(CAS-RN 33979-03-2)
PCB198	2,2',3,3',4,5,5',6,-oktaklorobifenil	(CAS-RN 68194-17-2)
PCB207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'-nonaklorobifenil	(CAS-RN 52663-79-3)
PCB209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decaklorobifenil	(CAS-RN 2051-24-3)

7.5.3.4 Senyawa untuk pemeriksaan resolusi

Jika diperlukan pemeriksaan resolusi kolom GC, direkomendasikan PCB sebagai berikut.

PCB28	2,4,4'-triklorobifenil	(CAS-RN 7012-37-5)
PCB31	2,4',5-triklorobifenil	(CAS-RN 16606-02-3)

7.5.3.5 Senyawa untuk pemeriksaan liner

Beberapa pestisida organoklorin (dieldrin, endrin, p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDD, Metoksiklor) cenderung terdegradasi atau teradsorpsi dalam liner GC. Untuk memantau kondisi liner, sangat direkomendasikan untuk dilakukan pemeriksaan rutin. Oleh karena itu, suntikkan larutan standar yang mengandung pestisida organoklorin sebagai berikut:

p,p'-DDT	(CAS-RN 50-29-3)
Endrin	(CAS-RN 72-20-8)

Uji ini direkomendasikan untuk menilai kinerja kolom GC dan sifat *inert port* injeksi. Selama pengujian dilakukan, degradasi DDT menjadi DDE dan DDD sebaiknya tidak melebihi 20%. Endrin terdegradasi untuk membentuk endrin aldehida dan endrin keton. Degradasi ini sebaiknya juga tidak melebihi 20%. Degradasi dihitung menggunakan Persamaan (1).

$$\% \text{ degradasi} = \frac{\text{jumlah area puncak produk degradasi}}{\text{jumlah area puncak zat dan produk degradasi}} \times 100 \quad (1)$$

Sebagai alternatif, pestisida organoklorin berlabel $^{13}\text{C}_{12}$ sebaiknya digunakan sebagai standar internal atau injeksi.

7.6 Persiapan larutan standar

7.6.1 Persiapan larutan standar kalibrasi pestisida organoklorin

Siapkan larutan standar primer tunggal pekat 0,4 mg/ml dalam n-heptana (7.2.2) dengan menimbang $10 \text{ mg} \pm 0,1 \text{ mg}$ masing-masing standar kalibrasi (lihat 7.5.2) dan larutkan dalam 25 ml n-heptana.

Campurkan sedikit (2 ml sampai dengan 10 ml) larutan standar primer tunggal ini ke dalam larutan standar campuran pestisida organoklorin.

PERINGATAN Karena sifat berbahaya dari zat yang digunakan, larutan standar yang tersedia secara komersial (sebaiknya bersertifikat) atau sebaiknya menggunakan larutan standar campuran. Hindari kontak kulit.

Larutan standar kerja harus menggunakan pelarut yang sama dengan ekstrak.

Larutan standar primer dan encer harus disimpan di tempat gelap pada suhu $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$. Larutan stabil setidaknya selama satu tahun, dengan catatan tidak terjadi penguapan pelarut.

Kolom kromatografi gas dan kondisi alat yang digunakan harus memisahkan komponen yang ada dalam larutan standar campuran.

7.6.2 Persiapan larutan standar internal

Siapkan larutan standar internal primer pekat, yang mengandung sekurang-kurangnya tiga komponen berbeda (lihat 7.5.3.2 atau 7.5.3.3) konsentrasi 0,4 mg/ml dalam n-heptana (7.2.2) dengan menimbang sekitar 10 mg \pm 0,1 mg masing-masing standar internal yang dipilih dan melarutkannya dalam 25 ml n-heptana. Siapkan larutan dengan konsentrasi tertentu dari larutan standar internal sekunder yang memunculkan puncak area terukur atau ketinggian puncak pada kromatogram (setidaknya 10 kali batas deteksi).

Jika digunakan prosedur dua langkah untuk GC-MS, siapkan dua larutan standar internal yang berbeda, yang salah satunya mengandung senyawa tanpa label. Setidaknya ada dua *congeners* (senyawa dengan sifat yang mirip) tanpa label harus digunakan dalam larutan standar internal pertama dan setidaknya tiga *congeners* berlabel dalam larutan kedua.

Larutan standar internal harus disimpan pada suhu (5 \pm 3) °C.

7.6.3 Persiapan larutan standar injeksi

Siapkan larutan standar injeksi primer pekat, setidaknya mengandung dua komponen berbeda (lihat 7.5.3.2 atau 7.5.3.3) konsentrasi 0,4 mg/ml dalam pelarut yang sesuai dengan menimbang 10 mg \pm 0,1 mg masing-masing standar injeksi yang dipilih dan melarutkannya dalam 25 ml pelarut yang sesuai. Siapkan dari larutan standar injeksi sekunder, larutan dengan konsentrasi tertentu yang memunculkan puncak dengan puncak area yang terukur atau ketinggian puncak pada kromatogram (setidaknya 10 kali batas deteksi).

Larutan standar injeksi harus disimpan pada suhu (5 \pm 3) °C.

7.6.4 Persiapan larutan untuk pemeriksaan liner

Untuk pemeriksaan liner, siapkan larutan pekat yang mengandung p,p'-DDT dan endrin (lihat 7.5.3.5) konsentrasi 1 mg/ml dalam pelarut yang sesuai dengan menimbang sekitar 10 mg \pm 0,1 mg dan melarutkannya dalam 10 ml pelarut.

Larutan untuk pemeriksaan liner harus disimpan pada (5 \pm 3) °C.

8 Peralatan

8.1 Prosedur ekstraksi dan pencucian

Gunakan alat gelas laboratorium.

Semua peralatan gelas yang akan digunakan harus dibersihkan, sesuai dengan prosedur pembersihan, kemudian dibilas menggunakan aseton dan selanjutnya dibilas dengan pelarut seperti heksana.

8.1.1 Botol sampel, terbuat dari kaca, baja tahan karat, atau aluminium, dengan penutup kaca atau tutup ulir dan segel politetrafluoroetilena (PTFE) dengan volume yang sesuai.

8.1.2 Alat pengocok, dengan gerakan horizontal (200 r/min sampai dengan 300 r/min).

8.1.3 Penangas air, dapat disesuaikan hingga 100 °C.

8.1.4 Corong pisah dengan volume yang sesuai.

8.1.5 Labu Erlenmeyer dengan volume yang sesuai.

8.1.6 Peralatan ekstraksi Soxhlet, terdiri dari labu alas bulat, misalnya 100 ml, ekstraktor *Soxhlet* dan timbel *Soxhlet*, misalnya 27 mm × 100 mm, kondensor vertikal, misalnya 300 mm, perangkat pemanas.

8.1.7 Alat *pressurized liquid extraction*, termasuk sel ekstraksi dan vial.

8.1.8 Bak ultrasonik, dengan unit suhu yang dapat disesuaikan.

8.1.9 Alat pemekat, tipe Kuderna Danish.

Evaporator lain, misalnya *rotary evaporator*, dapat digunakan jika sesuai.

8.1.10 Batu didih, *beads* kaca atau porselen.

8.1.11 Wol kuarsa atau wol kaca yang disilanisasi.

PERINGATAN Bekerja dengan wol kuarsa menimbulkan risiko bagi kesehatan melalui pelepasan partikel kuarsa halus. Menghirup partikel-partikel ini sebaiknya dicegah dengan menggunakan lemari asam dan memakai masker.

8.1.12 Tabung reaksi yang dikalibrasi, dengan kapasitas nominal 10 ml sampai dengan 15 ml dan penutup kaca.

8.1.13 Tabung kromatografi. Kolom kromatografi kaca, diameter dalam 5 mm sampai dengan 10 mm, panjang, misalnya 600 mm.

8.2 Kromatografi gas

8.2.1 Umum

Dilengkapi dengan kolom kapiler, detektor MS atau ECD berbasis ⁶³Ni.

CATATAN Penggunaan sumber radioaktif yang dienkapsulasi seperti yang ada di ECD memerlukan lisensi sesuai dengan peraturan nasional.

8.2.2 Kolom kapiler

Terdiri dari fase diam non-polar, misalnya 5% fenil-metil silikon, dilapisi ke kolom kapiler silika leburan atau kolom fase yang dapat mengikat bahan kimia serupa. Secara umum, panjang kolom sebaiknya 25 m sampai dengan 60 m. Diameter internal 0,18 mm sampai dengan 0,32 mm dan ketebalan film 0,1 µm sampai dengan 0,5 µm.

Jika diperlukan, periksa resolusi dengan PCB28 dan PCB31. Sebuah kolom dikatakan sesuai apabila puncak kromatografi PCB28 dan PCB31 terpisah dengan baik (resolusi sekurang-kurangnya 0,8).

9 Penyimpanan sampel dan perlakuan awal

9.1 Penyimpanan sampel

Setiap sampel harus dianalisis sesegera mungkin setelah pengambilan sampel.

Sedimen basah atau sampel materi tersuspensi harus disimpan sesuai dengan ISO 5667-15.

Setiap sampel kering dapat disimpan pada suhu kamar di tempat gelap hingga satu bulan. Sampel tanah harus disimpan sesuai dengan ISO 18512.

9.2 Perlakuan awal sampel

Perlakuan awal pada sampel untuk mendapatkan sampel uji sesuai dengan ISO 14507 dan/atau EN 16179, jika tidak ada ketentuan lain.

CATATAN EN 16179 mencakup pengambilan sampel, reduksi ukuran partikel, dan perlakuan awal sampel, ISO 14507 hanya berisi perlakuan awal sampel.

Perlakuan awal diperlukan untuk mengurangi kadar air saat ekstraksi pestisida organoklorin dan meningkatkan homogenitas.

Tahap pengeringan dilakukan berdasarkan pada sifat sampel dan pelarut ekstraksi yang akan digunakan. Jika diperlukan, sampel dikeringanginkan atau dikeringkan dalam oven pengering berventilasi pada suhu 40 °C atau menggunakan *freeze dryer*. Waktu pengeringan tergantung pada cara yang dipilih dan sifat sampel.

Pengeringan sampel dengan sempurna sangat penting jika ekstraksi menggunakan *Soxhlet*. Pengeringan sempurna juga direkomendasikan untuk sampel yang akan disimpan dalam jangka waktu lama. Waktu pengeringan tergantung pada teknik yang dipilih dan sifat sampel.

CATATAN Pengeringan sempurna dapat menyebabkan hilangnya triklorobenzena yang volatil.

10 Prosedur

10.1 Uji blanko

Lakukan uji blanko menggunakan tanah bebas pestisida organoklorin sesuai dengan prosedur yang digunakan (ekstraksi dan pencucian yang sesuai) dengan jumlah reagen yang sama untuk perlakuan awal, ekstraksi, pencucian, dan analisis sampel. Dahulukan analisis blanko sebelum menganalisis sampel untuk menghindari kontaminasi. Blanko harus kurang dari 50% dari nilai batas terendah yang dilaporkan.

10.2 Ekstraksi

10.2.1 Umum

Pilih prosedur ekstraksi (lihat Tabel 3) yang sesuai dengan sampel (matriks dan kadar air).

Prosedur ekstraksi 1 (lihat 10.2.2) dan prosedur ekstraksi 2 (lihat 10.2.3) direkomendasikan jika diperlukan untuk memecah agregat dalam sampel saat mengekstrak pestisida organoklorin. Pada sampel basah, prosedur ini harus diterapkan untuk menghilangkan kandungan air.

Prosedur ekstraksi 3 (lihat 10.2.4) direkomendasikan jika sampel dalam kondisi kering dan pelarutan pestisida organoklorin pada sampel adalah tahapan yang sangat penting (bahan kaya organik).

Prosedur ekstraksi lainnya, misalnya ekstraksi gelombang mikro, dapat digunakan jika laboratorium dapat menunjukkan efisiensi ekstraksi setara dengan salah satu prosedur ekstraksi 1, 2 atau 3 seperti yang dijelaskan dalam Standar ini.

Prosedur ekstraksi yang dijelaskan dalam Standar ini sesuai untuk ekstraksi 2 g sampai dengan 20 g sampel kering. Jika sampel memiliki kerapatan yang rendah (misalnya tanah kaya humus) atau pada sampel yang homogen, tergantung pada kandungan organoklorin yang diharapkan, maka sampel dalam jumlah lebih sedikit dapat digunakan.

Jumlah sampel harus ditimbang dengan ketelitian sekurang-kurangnya 1%.

Tabel 3 – Prosedur ekstraksi yang digunakan untuk matriks yang berbeda

Kondisi kelembaban sampel uji	Matriks	Pelarut ekstraksi	Teknik ekstraksi	Prosedur ekstraksi
Kering	Tanah, sedimen	Aseton/pelarut seperti heksana	Agitasi, sonikasi	Prosedur 1 (lihat 10.2.2)
			PLE	Prosedur 2 (lihat 10.2.3)
		Pelarut seperti heksana	<i>Soxhlet</i>	Prosedur 3 (lihat 10.2.4)
			PLE	Prosedur 2 (lihat 10.2.3)
Basah	Tanah, sedimen	Aseton/pelarut seperti heksana	Agitasi, sonikasi	Prosedur 1 (lihat 10.2.2)
			PLE	Prosedur 2 (lihat 10.2.3)

10.2.2 Prosedur ekstraksi 1 — Agitasi atau sonikasi

Letakkan sampel dalam botol (8.1.1). Tambahkan larutan standar internal dengan volume tertentu (lihat 7.6.2). Tambahkan 50 ml aseton (7.2.1) ke dalam sampel uji dan ekstrak dengan cara dikocok atau gunakan sonikasi untuk memecah agregat hingga homogen selama 30 menit.

Kemudian tambahkan 50 ml petroleum eter (7.2.3) atau pelarut seperti heksana (7.2.4) dan kocok kembali hingga homogen atau gunakan sonikasi selama sekurang-kurangnya 1 jam. Gunakan alat pengocok horizontal (8.1.2) dan pastikan pelarut terkocok dalam botol sampel selama mungkin (pada posisi horizontal).

Setelah padatan mengendap, tuang larutan supernatan. Cuci fase padat dengan 50 ml petroleum eter (7.2.3) atau pelarut seperti heksana (7.2.4) dan tuang kembali larutan supernatan.

Masukkan ekstrak ke dalam corong pisah (8.1.4) dan dikocok sebanyak 2 kali dengan 400 ml air untuk menghilangkan aseton (7.2.6).

Keringkan ekstrak menggunakan natrium sulfat anhidrat (7.2.5). Bilas natrium sulfat dengan petroleum eter (7.2.3) atau pelarut seperti heksana (7.2.4) dan tambahkan campuran ke dalam ekstrak.

CATATAN 1 Air bebas ion dapat digunakan untuk menghilangkan aseton, karena tidak mengandung senyawa target.

Jika sampel memiliki kadar air hingga 25%, dapat menggunakan prosedur yang sama. Jika kadar air sampel lebih besar dari 25%, prosedur ini kurang efektif dan jumlah pelarut aseton harus ditambah. Perbandingan jumlah aseton:air sebaiknya 9:1. Perbandingan jumlah aseton:petroleum eter atau pelarut seperti heksana sebaiknya tetap konstan hingga 1:2.

Standar internal dalam jumlah tertentu ditambahkan dalam setiap prosedur ekstraksi harus dalam jumlah sedemikian rupa sehingga konsentrasi akhir dalam ekstrak berada dalam rentang kerja metode pengujian. Biasanya, konsentrasi standar internal tunggal dalam ekstrak akhir adalah 0,1 µg/ml. Untuk membasahi sampel uji secara menyeluruh, jumlah standar internal minimal yang disarankan adalah 100 µl.

CATATAN 2 Dalam matriks dengan kandungan bahan organik tinggi, diperlukan prosedur ekstraksi yang lebih lama.

10.2.3 Prosedur ekstraksi 2 — *Pressurized Liquid Extraction (PLE)*

Peralatan (8.1.7) disiapkan sesuai dengan petunjuk penggunaan dari produsen. Volume sel PLE yang dipilih bergantung pada tingkat kontaminasi dan volume sampel yang akan dianalisis. Tempatkan filter selulosa di bagian bawah sel dan tambahkan sampel atau campuran sampel dengan tanah diatomik atau pasir laut ke dalam sel ekstraksi. Tambahkan sejumlah tertentu larutan standar internal sekunder (lihat 7.6.2). Jika perlu, tambahkan lebih banyak tanah diatomik atau pasir laut agar sel terisi penuh. Tutup sel dengan rapat dan ikuti petunjuk penggunaan dari produsen. Pemilihan pelarut seperti heksana (7.2.4) atau campuran pelarut seperti heksana (7.2.4) dan aseton (7.2.1) bergantung pada kadar air sampel.

Contoh untuk mengatur peralatan PLE:

- suhu: 100 °C;
- fase diam: 10 min;
- jumlah siklus: 2;
- *flush*: 100%.

Setelah ekstraksi selesai, volume ekstrak diukur atau diisi sesuai volume yang ditentukan.

10.2.4 Prosedur ekstraksi 3 — *Soxhlet*

Letakkan sampel kering dalam timbel ekstraksi (8.1.6). Tambahkan larutan standar internal sekunder dalam jumlah tertentu (lihat 7.6.2) dan 70 ml pelarut seperti heksana (7.2.4) ke dalam tabung ekstraksi. Ekstrak sampel menggunakan alat ekstraksi *Soxhlet* (8.1.6). Durasi ekstraksi sebaiknya dihitung minimal 100 siklus ekstraksi.

Jika sampel bersifat higroskopis, tambahkan natrium sulfat ke dalam sampel untuk mendapatkan sampel bebas air.

10.3 Pemekatan

Tambahkan batu didih (8.1.10) ke dalam ekstrak dan pekatkan ekstrak hingga kira-kira 10 ml dengan penguapan menggunakan alat pemekat (8.1.9). Pindahkan ekstrak pekat ke dalam tabung reaksi yang telah dikalibrasi (8.1.12) dan pekatkan hingga 1 ml menggunakan aliran gas nitrogen atau gas *inert* lainnya pada suhu kamar. Catat volume akhir ekstrak.

Pemekatan tidak selalu diperlukan jika senyawa yang diinginkan ada dalam konsentrasi tinggi atau jika menggunakan volume injeksi yang tinggi.

Dalam sampel yang sangat terkontaminasi, alikuot digunakan untuk pencucian lebih lanjut. Tetapkan fraksi *f* ekstrak yang digunakan untuk pencucian lebih lanjut. Jika zat tidak berlabel sudah digunakan sebagai standar internal yang ditambahkan ke sampel, tambahkan larutan standar internal sekunder dalam jumlah tertentu (lihat 7.6.2).

Untuk mencegah hilangnya pestisida organoklorin yang paling mudah menguap, ekstrak tidak boleh diuapkan hingga benar-benar kering. Dianjurkan untuk menambahkan sedikit (satu tetes) pelarut pencegah penguapan (7.2.8).

10.4 Pencucian ekstrak

10.4.1 Umum

Pencucian harus dilakukan jika terdapat zat pengganggu pestisida organoklorin dalam kromatogram gas, atau jika senyawa tersebut dapat memengaruhi pengujian pada GC (seperti kontaminasi pada sistem kromatografi). Jika zat pengganggu tidak ada atau diabaikan, pencucian tidak diperlukan. Tergantung pada senyawa target dan zat yang akan dihilangkan, Tabel 4 harus digunakan. Jika senyawa polar harus dihilangkan, berikan perhatian khusus pada perolehan kembali pestisida organoklorin polar.

Tabel 4 – Metode pencucian

Metode	Pencucian	Untuk menghilangkan	Keterangan
Pencucian A	Aluminium oksida	Senyawa polar	Sesuaikan kadar air dan jaga agar tetap konstan
Pencucian B	Silika gel	Senyawa polar	
Pencucian C	Permeasi gel	Senyawa bermolekul tinggi, senyawa lipid	
Pencucian D	Florisil ^{®2)}	Senyawa polar	

Prosedur pencucian lainnya juga dapat digunakan, asalkan prosedur tersebut menghilangkan puncak-puncak yang mengganggu dalam kromatogram dan perolehan kembali setelah dilakukan pencucian tersebut sekurang-kurangnya 80% untuk semua senyawa yang relevan (termasuk standar internal).

Pindahkan ekstrak yang diperoleh pada 10.3 dalam jumlah tertentu ke dalam sistem pencucian. Sebagai alternatif, alikuot dapat digunakan.

10.4.2 Pencucian A — Aluminium oksida

Siapkan kolom adsorpsi dengan menempatkan sumbat kecil berupa wol kuarsa (8.1.11) ke dalam tabung kromatografi (8.1.13) dan mengemasnya dalam kondisi kering dengan 2,0 g ± 0,1 g aluminium oksida (7.3.1.1).

Masukkan ekstrak ke kolom adsorpsi kemasan kering. Bilas tabung reaksi dua kali dengan 1 ml petroleum eter (7.2.3) atau pelarut seperti heksana (7.2.4) dan pindahkan hasil pembilasan dalam jumlah tertentu ke dalam kolom menggunakan pipet yang sama dengan segera setelah ketinggian cairan mencapai sisi atas kolom. Elusi dengan kurang lebih 20 ml petroleum eter atau pelarut seperti heksana. Tampung seluruh eluatnya.

Pelarut pencegah penguapan (7.2.8) ditambahkan ke eluat, dan kemudian eluat dipisahkan hingga volume yang diinginkan (lihat 10.3).

Jika aluminium oksida baru digunakan, volume pelarut untuk mengelusi semua pestisida organoklorin dari kolom harus ditentukan menggunakan larutan standar pestisida organoklorin yang tepat.

CATATAN *Cartridge* aluminium oksida sekali pakai yang tersedia secara komersial dapat digunakan sebagai alternatif. Kolom sesuai jika kinerja metode sesuai dengan 10.7.5 dan 10.8.6.

10.4.3 Pencucian B — Silika gel

Masukkan wol kaca (8.1.11) dan 10 g silika gel (7.3.2.2) ke dalam tabung kromatografi (8.1.13). Tambahkan lapisan natrium sulfat (7.2.5) jika diperlukan. Kondisikan dengan 20 ml petroleum eter (7.2.3) atau pelarut seperti heksana (7.2.4). Masukkan ekstrak ke kolom ketika campuran pelarut tersisa kurang lebih 0,5 cm di atas kolom.

Elusi dilakukan dengan menggunakan petroleum eter sebanyak 10 ml (7.2.3) atau pelarut seperti heksana (7.2.4). Pelarut pencegah penguapan (7.2.8) ditambahkan ke eluat, dan kemudian eluat dipekatkan hingga mencapai volume yang diinginkan (lihat 10.3).

10.4.4 Pencucian C — Kromatografi permeasi gel

Ekstrak dipekatkan di bawah aliran nitrogen secara perlahan. Residu segera dilarutkan dalam 5 ml campuran pelarut [(etil asetat (7.3.3.2) dan sikloheksana (7.3.3.3) (1:1)]. Residu yang terlarut dimasukkan ke dalam kolom GPC yang diisi Bio-Beads®¹ (7.3.3.1).

Campuran pelarut digunakan untuk elusi pada GPC.

Pengaturan sistem GPC sebaiknya sebagai berikut:

- laju aliran : 5 ml/min;
- volume *loop* sampel : 5 ml;
- fraksi pertama : 120 ml (24 min);
- elusi pestisida organoklorin : 155 ml (31 min);
- fraksi terakhir : 20 ml (4 min).

Volume elusi dari fraksi pertama, eluat dan fraksi terakhir harus dianggap sebagai nilai yang direkomendasikan dan harus diverifikasi secara berkala melalui larutan standar pestisida organoklorin multi-komponen.

Pelarut pencegah penguapan (7.2.8) ditambahkan ke dalam eluat, dan kemudian eluat dipekatkan hingga volume yang diinginkan (lihat 10.3).

CATATAN Selama penggunaan kolom permeasi gel, dapat terjadi perubahan kecil pada volume yang akan ditampung. Hal ini terlihat dari berkurangnya perolehan kembali standar internal. Jika hal ini terjadi, mungkin diperlukan penyesuaian kembali volume sampel.

10.4.5 Pencucian D — Florisil®²

Masukkan wol kaca (8.1.11) ke dalam tabung kromatografi (8.1.13) dan tambahkan 5 mm natrium sulfat (7.2.5), 1,5 g Florisil®² (7.3.4.1), dan tambahkan kembali 5 mm natrium sulfat. Untuk mempertahankan posisi campuran tersebut tidak berubah, letakkan wol kaca (8.1.11) di atasnya. Bilas kolom dengan sekitar 50 ml iso-oktana (7.3.4.2). Masukkan ekstrak ke kolom. Bilas tabung atau wadah ekstraksi dua kali dengan 1 ml iso-oktana/toluena (fraksi volume 95/5) (7.3.4.4) dan pindahkan dalam jumlah tertentu secara perlahan ke dalam kolom. Kemudian elusi dengan 7 ml iso-oktana/toluena dan dilanjutkan dengan 10 ml pelarut seperti heksana (7.2.4)/dietil eter (7.3.4.5) (fraksi volume 90/10). Satu tetes pelarut pencegah

penguapan (7.2.8) ditambahkan ke dalam eluat, dan kemudian eluat dipekatkan hingga mencapai volume yang diinginkan (lihat 10.3).

Cartridge ekstraksi fase padat (SPE) Florisil®²⁾ yang tersedia secara komersial juga dapat digunakan. Dalam semua kasus, kesesuaian prosedur pencucian harus dievaluasi dengan memeriksa kinerja metode.

10.5 Penambahan standar injeksi

Jika penambahan standar injeksi diperlukan, tambahkan standar injeksi dalam jumlah yang sesuai (lihat 7.6.3) pada ekstrak yang diperoleh setelah pencucian (jumlah ini harus sesuai dengan konsentrasi standar kalibrasi). Catat volume terakhir, *V*.

10.6 Analisis kromatografi gas (GC)

10.6.1 Umum

Penggunaan detektor MS dan ECD diperbolehkan. Secara umum, MS lebih direkomendasikan. Untuk kedua teknik deteksi, metode standar internal digunakan untuk kuantifikasi.

Beberapa pestisida organoklorin bersifat termolabil dan cenderung terserap pada permukaan liner injeksi. Penggunaan injeksi *Programmed Temperature Vaporizing* (PTV) direkomendasikan. Pengecekan rutin sistem injeksi diperlukan (kartu kendali).

10.6.2 Pengaturan kromatografi gas

Kromatografi gas (8.2) diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan pestisida organoklorin dapat tercapai (lihat 5.2). Pada saat memulai pengoperasian, kondisi kromatografi gas dioptimalkan, misalnya, sesuai kondisi berikut.

Kolom pemisahan	: Kolom kapiler (lihat 8.2.2).
Program suhu oven	: 60 °C, 2 min; 30 °C/min ke 120 °C; 5 °C/min ke 300 °C; 300 °C, 15 min.
Suhu injektor	: 260 °C atau PTV: 40 °C, 0,1 min; 300 °C/min ke 250 °C, 5 min pada 250 °C.
Injeksi <i>splitless</i>	: 1 µl, pertahankan kondisi split tertutup selama 1,8 min.
Gas pembawa	: Helium 0,8 ml/min ke 1 ml/min.

10.7 Spektrometer massa (*Mass Spectrometer/MS*)

10.7.1 Kondisi spektrometer massa

Spektrometer massa diatur sesuai dengan petunjuk penggunaan dari produsen. Kromatogram direkam dalam *scan* penuh atau mode pemantauan ion terpilih/terekam (SIM/SIR). Ion yang dipilih ditunjukkan pada Tabel 5. Untuk setiap senyawa target, dipilih dua ion dari gugus isotop klorin (dari ion molekuler) dan satu ion fragmen spesifik.

Tabel 5 – Ion perkiraan untuk pestisida organoklorin yang digunakan dengan deteksi MS

Senyawa	Ion perkiraan 1 <i>m/z</i>	Ion perkiraan 2 <i>m/z</i>	Ion perkiraan 3 <i>m/z</i>
Aldrin	263	265	261
Dieldrin	263	345	381
Endrin	263	261	265
Isodrin	263	227	193
Telodrin	311	206	240
Heptaklor	100	65	272
Heptakloroepoksida (exo-, cis-isomer)	253	183	289
Heptakloroepoksida (endo-, trans-isomer)	253	81	263
α -Endosulfan	195	159	265
β -Endosulfan	195	241	159
Endosulfan sulfat	387	389	253
p,p'-DDE	246	318	176
o,p'-DDD	235	165	199
o,p'-DDT	235	165	199
p,p'-DDD	235	165	199
o,p'-DDE	246	318	176
p,p'-DDT	235	165	199
Metoksiklor	227	228	274
HCB	284	286	282
α -HCH	181	219	109
β -HCH	181	219	109
γ -HCH	181	219	109
δ -HCH	109	219	183
Heksakloro-1,3-butadiena	225	260	190
α -Klordan	373	375	377
γ -Klordan	373	375	377
1,2,4-Triklorobenzena	180	182	145
1,2,3-Triklorobenzena	180	182	145
1,3,5-Triklorobenzena	180	182	145
1,2,3,4-tetraklorobenzena	216	214	108
1,2,3,5-tetraklorobenzena	216	214	108
1,2,4,5-tetraklorobenzena	216	214	108
Pentaklorobenzena	250	252	215
Keterangan: <i>m</i> : massa dari ion <i>z</i> : jumlah muatan ion Catatan Ion yang disebutkan diatas dapat berbeda tergantung pada sistem MS yang digunakan dan kondisinya.			

10.7.2 Kalibrasi metode menggunakan standar internal

10.7.2.1 Umum

Metode ini merupakan metode independen untuk menentukan konsentrasi massa dan tidak dipengaruhi oleh kesalahan penyuntikan, volume air yang ada dalam sampel atau efek matriks dalam sampel, dengan ketentuan perolehan kembali dari senyawa yang akan dianalisis kurang lebih sama dengan standar internal.

Tambahkan massa spesifik standar internal (lihat 7.6.2) dan standar injeksi (lihat 7.6.3) pada pengenceran larutan kalibrasi campuran (lihat 7.6.1). Konsentrasi massa dari kedua standar harus sama untuk semua larutan kalibrasi dan sebanding dengan konsentrasi kedua standar dalam ekstraksi akhir. Lakukan analisis GC-MS dengan larutan kalibrasi. Hitung perbandingan respons relatif untuk target pestisida organoklorin dan standar internal setelah mendapatkan kurva kalibrasi dengan memplotkan perbandingan konsentrasi massa terhadap perbandingan area puncak (atau ketinggian puncak) menggunakan Persamaan (2):

$$\frac{A_n}{A_{IS}} = s \times \frac{\rho_n}{\rho_{IS}} + b \quad (2)$$

Keterangan:

- A_n adalah respons terukur dari target pestisida organoklorin, misalnya area puncak;
- A_{IS} adalah respons terukur dari standar internal, misalnya area puncak;
- s adalah *slope* dari fungsi kalibrasi;
- ρ_n adalah konsentrasi massa dari target pestisida organoklorin dalam larutan kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per liter ($\mu\text{g/l}$);
- ρ_{IS} adalah konsentrasi massa dari standar internal dalam larutan kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per liter ($\mu\text{g/l}$);
- b adalah *intercept* kurva kalibrasi dengan ordinat.

Dua jenis kalibrasi dibedakan: kalibrasi awal (lihat 10.7.2.2) dan kalibrasi harian (pengecekan validitas dari kalibrasi awal), yang dikenal sebagai "verifikasi kalibrasi" (lihat 10.7.2.3).

Metode kalibrasi nonlinier dapat diterapkan.

10.7.2.2 Kalibrasi awal

Kalibrasi awal berfungsi untuk menetapkan rentang kerja linier GC-MS. Kalibrasi ini dilakukan ketika suatu metode digunakan untuk pertama kalinya dan setelah pemeliharaan dan/atau perbaikan peralatan.

Buat kromatogram gas dari sekurang-kurangnya lima deret larutan standar, termasuk larutan blanko. Puncak diidentifikasi menggunakan MS atau kromatogram gas dari masing-masing senyawa. Persiapkan kurva kalibrasi untuk setiap senyawa.

Lakukan pengecekan linearitas sesuai dengan ISO 8466-1.

Kalibrasi non linier diperbolehkan menggunakan lima deret standar. Dalam hal ini, lima deret standar yang sama harus digunakan untuk kalibrasi ulang.

10.7.2.3 Verifikasi kalibrasi

Verifikasi kalibrasi memeriksa validitas rentang kerja linier dari kurva kalibrasi awal dan harus dilakukan sebelum menguji setiap rangkaian sampel.

Untuk setiap rangkaian sampel, sekurang-kurangnya dua standar kalibrasi disuntikkan dengan konsentrasi $(20 \pm 10)\%$ dan $(80 \pm 10)\%$ dari rentang linier yang ditetapkan dan garis lurus dihitung dari pengukuran ini. Jika garis lurus berada dalam $\pm 10\%$ dari nilai referensi garis kalibrasi awal, garis kalibrasi awal dianggap valid. Jika tidak, kurva kalibrasi baru harus dibuat sesuai dengan 10.7.2.2.

10.7.3 Pengukuran

Ekstrak dianalisis sesuai dengan 10.6. Dengan bantuan waktu retensi absolut, identifikasi puncak yang akan digunakan untuk menghitung waktu retensi relatif. Standar internal atau standar injeksi yang digunakan mendekati puncak target yang akan dikuantifikasi. Untuk puncak relevan lainnya dalam kromatogram gas, tentukan waktu retensi relatif.

Jika konsentrasi ekstrak untuk identifikasi atau kuantifikasi yang tepat lebih tinggi dari standar, ekstrak encer harus disuntikkan untuk identifikasi atau kuantifikasi yang tepat dari target pestisida organoklorin yang relevan atau mengekstrak ulang sampel menggunakan jumlah sampel yang lebih rendah.

Jika hasil pengenceran standar internal berada diluar kisaran linier, Persamaan (4) tidak memberikan kuantifikasi yang tepat dan penyimpangan dari linearitas harus diperhitungkan.

10.7.4 Identifikasi

Terapkan ISO 22892 untuk identifikasi pestisida organoklorin. Dalam ISO 22892, kriteria kromatografi dan MS telah dideskripsikan untuk pengidentifikasian yang tepat. Gunakan ion perkiraan seperti pada Tabel 5.

10.7.5 Pengecekan kinerja metode

Karena Standar ini memungkinkan penggunaan modul yang berbeda, maka penting untuk memastikan kriteria kualitas yang ditentukan dalam karakteristik kinerja (lihat pasal 11). Untuk itu, blanko sampel (misalnya pasir laut) ditambahkan dengan larutan standar kerja. Standar kerja dapat berupa satu standar kalibrasi, dengan ketentuan apabila perbandingan volume (standar internal, ekstraksi, dan/atau injeksi) yang digunakan sama. Kinerja sampel standar dijalankan melalui prosedur analitis total seperti sampel matriks. Perolehan kembali dari standar internal dihitung menggunakan Persamaan (3).

Digunakan untuk analisis ini:

- volume akhir yang sama;
- volume standar internal yang sama;
- volume standar injeksi yang sama.

Hitung perbandingan setiap standar internal antara sampel dan larutan standar kerja menggunakan standar injeksi yang paling mendekati dengan Persamaan (3):

$$U = \frac{A_1(S)}{A_2(S)} \times \frac{A_2(p_s)}{A_1(p_s)} \times 100 \tag{3}$$

Keterangan:

U adalah tingkat perolehan kembali, dinyatakan dalam persen (%);

- A_1 adalah respons terukur dari standar internal, misalnya area puncak;
 A_2 adalah respons terukur dari standar injeksi, misalnya area puncak;
 p_s adalah standar kerja;
 S adalah sampel.

Perolehan kembali standar internal sekurang-kurangnya harus 50%. Jika perolehan kembali standar internal dibawah 50%, Standar ini tidak berlaku.

Jika prosedur dua langkah untuk penambahan standar internal telah digunakan, hitung perbandingan ekstraksi antara standar ekstraksi tanpa label yang ditambahkan ke sampel dan standar internal yang ditambahkan ke ekstrak (standar kuantifikasi) menggunakan Persamaan (4):

$$E = \frac{A_{1,\text{rata-rata}}(S) \times f}{A_3(S)} \times \frac{A_3(p_s)}{A_1(p_s)} \times 100 \quad (4)$$

Keterangan:

- E adalah tingkat perolehan kembali ekstraksi dalam persen (%);
 $A_{1,\text{rata-rata}}$ adalah rata-rata respons terukur dari standar internal pestisida organoklorin berlabel, misalnya area puncak;
 A_3 adalah respons terukur dari standar ekstraksi pestisida organoklorin tanpa label, misalnya area puncak;
 f adalah fraksi dari ekstrak murni yang digunakan untuk pencucian;
 p_s adalah standar kerja;
 S adalah sampel.

Nilai yang dihitung untuk konsentrasi target pestisida organoklorin dalam sampel, hanya dapat diterima jika perolehan kembali standar internal memenuhi persyaratan yang dijelaskan di atas. Dalam kasus lain, nilai sebaiknya dilaporkan sebagai indikatif.

10.7.6 Perhitungan

Hitung massa setiap senyawa target dari kalibrasi *multipoint* pada keseluruhan metode dengan menggunakan Persamaan (5).

$$w_n = \frac{(A_n / A_{IS}) - b}{s \cdot m \cdot d_s} \times \rho_{IS} \times f_e \times f_t \times V \times 100 \quad (5)$$

Keterangan:

- w_n adalah kandungan senyawa target yang ditemukan dalam sampel, dinyatakan dalam miligram per kilogram (mg/kg) berdasarkan bobot kering;
 A_{IS} adalah respons terukur dari standar internal pestisida organoklorin berlabel dalam ekstrak sampel;
 A_n adalah respons terukur dari senyawa target dalam ekstrak sampel;
 ρ_{IS} adalah massa standar internal pestisida organoklorin berlabel yang ditambahkan ke sampel, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/ml}$);
 m adalah massa sampel uji yang digunakan untuk ekstraksi, dinyatakan dalam gram (g);
 d_s adalah fraksi bahan kering dalam sampel lembab lapangan, ditentukan sesuai dengan ISO 11465, dinyatakan dalam persen (%);
 f_e adalah perbandingan total volume pelarut organik yang digunakan untuk ekstraksi dengan alikuot yang digunakan untuk analisis; $f = 1$ jika seluruh ekstrak digunakan;
 f_t adalah faktor adisi;

- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (ml);
 s adalah *slope* fungsi kalibrasi ulang;
 b adalah *intercept* kurva kalibrasi ulang dengan ordinat.

Hasilnya harus dinyatakan dalam miligram per kilogram (mg/kg) bobot kering dan dibulatkan menjadi dua desimal.

10.8 Deteksi penangkap elektron (ECD)

10.8.1 Umum

Penggunaan ECD, dapat mengikuti prosedur yang sama seperti MS, kecuali poin-poin yang dijelaskan di bawah ini untuk seluruh langkah spesifik dalam pengukuran. Untuk ECD, urutan yang sama dalam paragraf seperti pada 10.7 (deteksi MS). Hanya bagian berbeda yang dijelaskan.

Analisis harus memperhatikan keberadaan belerang dalam ekstrak, dan menggunakan pencucian yang sesuai sebelum penyuntikan.

10.8.2 Kondisi ECD

ECD harus dioperasikan pada suhu 300 °C sampai dengan 350 °C. Gunakan pengaturan yang direkomendasikan produsen agar memberikan kondisi terbaik untuk linearitas respons detektor.

Laju aliran gas pembawa harus dipilih untuk memberikan sensitivitas terbaik.

10.8.3 Kalibrasi metode menggunakan standar internal

Penggunaan ECD, standar internal dan injeksi merupakan pestisida organoklorin tanpa label yang termasuk dalam standar yang dijelaskan dalam 7.5.3.3. Kalibrasi dilakukan sesuai dengan 10.7.2.

10.8.4 Pengukuran

Merujuk pada 10.7.3.

10.8.5 Identifikasi

Tiga poin identifikasi harus diperoleh sesuai dengan ISO 22892. Periksa keberadaan senyawa yang ditetapkan dengan mengulangi analisis kromatografi gas menggunakan GC-MS (lihat di atas) atau menggunakan kolom dengan fase semi polar dengan ECD. Hasil pengukuran menggunakan kolom kedua sebaiknya dalam deviasi 10%. Jika keduanya benar, diperoleh tiga poin identifikasi (lihat ISO 22892) untuk identifikasi. Jika salah satunya hilang, maka hanya indikasi yang dapat dilaporkan.

Senyawa tunggal diasumsikan ada jika waktu retensi target dalam kromatogram sampel sesuai dengan waktu retensi dalam kromatogram yang diperoleh dari senyawa acuan yang diukur dalam kondisi sama (toleransi $\pm 1\%$, maksimum 10 s).

Jika tidak ada puncak pada waktu retensi karakteristik, dan kromatogram dalam kondisi normal dalam semua aspek lainnya, maka diasumsikan tidak ada senyawa target.

10.8.6 Pemeriksaan kinerja metode ECD

Kesalahan dapat terjadi ketika puncak zat pengganggu muncul pada posisi yang sama dalam kromatogram standar internal. Oleh karena itu, prosedur berikut digunakan untuk memeriksa jika ada zat pengganggu.

Ada atau tidak adanya zat pengganggu ditentukan dari respons terukur dari standar injeksi. Ketika tidak ada zat pengganggu dalam ekstrak, perbandingan antara respons standar injeksi dalam ekstrak sama dengan perbandingan dalam larutan standar. Hasil bagi dari perbandingan ini adalah perbandingan respons relatif, R_{relr} . Ketika tidak ada zat pengganggu dalam ekstrak, nilai R_{relr} pada prinsipnya adalah 1,00. Dalam Standar ini, diasumsikan bahwa tidak ada zat pengganggu dalam ekstrak ketika $R_{relr} = 1,00 \pm 0,05$.

Ketika nilai R_{relr} menyimpang dari $1,00 \pm 0,05$, diasumsikan bahwa respons salah satu standar injeksi dipengaruhi oleh zat pengganggu yang ada dalam ekstrak. Dalam hal ini, kinerja metode dihitung menggunakan standar injeksi yang bebas zat pengganggu.

Verifikasi ketepatan respons standar injeksi sebagai berikut.

Hitung perbandingan respons relatif, R_{relr} , untuk standar injeksi PCB menggunakan Persamaan (6):

$$R_{relr} = \frac{R_{e,198}}{R_{e,2}} \times \frac{R_{s,2}}{R_{s,209}} \quad (6)$$

Keterangan:

- $R_{e,198}$ adalah respons PCB198 dalam ekstrak;
- $R_{e,2}$ adalah respons dari standar internal kedua yang dipilih dalam ekstrak;
- $R_{s,209}$ adalah respons PCB209 dalam larutan standar kerja;
- $R_{s,2}$ adalah respons dari standar injeksi kedua yang dipilih dalam larutan standar kerja.

CATATAN PCB198 atau PCB209 direkomendasikan sebagai standar injeksi untuk deteksi ECD karena lebih sedikit interferensi. Standar internal lainnya dapat digunakan.

Nilai teoritis R_{relr} adalah 1,00. Jika $R_{relr} = 1,00 \pm 0,05$, dianggap standar injeksi dikuantifikasi dengan benar dan masukkan nilai 1,00 untuk R_{relr} dalam Persamaan (6). Jika $R_{relr} < 0,95$ atau $R_{relr} > 1,05$, kromatogram gas harus diperiksa untuk kuantifikasi dengan benar dari kedua standar injeksi. Perhatikan secara khusus bentuk puncak dan lebar puncak. Jika kuantifikasi telah dilakukan dengan benar, gunakan kedua standar jika $R_{relr} = 1,00 \pm 0,05$. Gunakan hanya standar injeksi PCB198 jika $R_{relr} < 1,05$ dan gunakan hanya PCB209 jika $R_{relr} > 1,05$. Hitung perbandingan antara sampel dan larutan standar kerja untuk setiap standar internal menggunakan standar injeksi yang paling mendekati sesuai dengan Persamaan (3).

Jika pencucian berulang diperlukan, perbandingan yang lebih rendah dapat diperoleh, karena hilangnya senyawa pada setiap langkah pencucian, dapat diterima oleh Standar ini. Perbandingan yang lebih rendah dapat diterima jika hal ini dapat dijelaskan oleh adanya senyawa yang hilang pada setiap langkah pencucian. Perolehan kembali minimal standar internal harus 50%. Jika perolehan kembali standar internal lebih rendah dari 50%, maka Standar ini tidak berlaku.

10.8.7 Perhitungan

Merujuk pada 10.7.6.

11 Karakteristik kinerja

Metode ini berbasis kinerja. Modifikasi metode diperbolehkan untuk mengatasi interferensi yang tidak ditentukan dalam Standar ini, dengan syarat kriteria kinerja terpenuhi. Standar internal harus digunakan untuk memeriksa prosedur perlakuan awal, ekstraksi, dan pencucian. Perolehan kembali Standar ini harus 50% sampai dengan 110%. Jika perolehan kembali lebih rendah atau diluar batas (yaitu 50% sampai dengan 110%), metode harus dimodifikasi menggunakan modul lain yang dijelaskan dalam Standar ini.

Beberapa sampel memerlukan pencucian berulang jika nilai perolehan kembali rendah. Dalam hal ini, penting untuk memilih jumlah standar internal yang lebih banyak atau menggunakan standar berlabel.

12 Presisi

Data karakteristik kinerja metode telah dievaluasi (lihat Lampiran A).

13 Laporan pengujian

Laporan pengujian harus berisi setidaknya informasi berikut:

- a) referensi ke Standar ini, yaitu SNI ISO 23646, dan detektor yang digunakan, ECD atau MS;
- b) identifikasi lengkap sampel;
- c) penentuan hasil dari penetapan berdasarkan 10.7 (GC-MS) dan 10.8 (GC-ECD);
- d) informasi lain yang dapat memengaruhi hasil yang tidak ditentukan dalam Standar ini atau yang bersifat opsional.

Lampiran A
(informatif)
Data replitabilitas dan reproduksibilitas

A.1 Perbandingan antar laboratorium untuk tanah

Untuk penentuan replitabilitas dan reproduksibilitas, data untuk penentuan pestisida organoklorin dalam tanah dihasilkan dari dua perbandingan antar laboratorium yang berbeda. Perbandingan pertama merupakan bagian dari program perbandingan antar laboratorium yang dilakukan oleh *Federal Institute for Materials Research and Testing*, Jerman (*Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM)*). Tiga tanah berpasir dengan tingkat kontaminasi yang berbeda telah dianalisis. Perbandingan kedua juga diselenggarakan oleh BAM. Dalam kerangka kerja "Studi uji kekasaran untuk menyelidiki kondisi ekstraksi optimal untuk penentuan zat organik dalam tanah", satu sampel kompos telah dianalisis. Dalam kedua perbandingan tersebut, berbagai prosedur ekstraksi dan pencucian diterapkan, dan sampel diukur dengan kromatografi gas dengan detektor selektif massa (GC-MS) dan kromatografi gas dengan detektor penangkap elektron (GC-ECD).

Organisasi dan implementasi dilakukan sesuai dengan pedoman yang diberikan dalam ISO 13528 dan ISO/IEC 17043.

Tabel A.1 Daftar jenis bahan yang diuji.

Tabel A.1 – Bahan yang diuji dalam perbandingan antar laboratorium untuk penentuan pestisida organoklorin dalam tanah

Sampel	Ukuran butir	Bahan yang diuji
Tanah 1	< 0,125 mm	Tanah berpasir dari lokasi industri yang terkontaminasi, Kota Berlin, Jerman
Tanah 2	< 0,25 mm	Tanah berpasir dari lokasi industri yang terkontaminasi, Kota Berlin, Jerman
Tanah 3	< 0,25 mm	Tanah berpasir dari lokasi industri yang terkontaminasi, Kota Berlin, Jerman
Kompos	< 2 mm	Campuran kompos dari limbah hijauan, kompos yang diperkaya dan pasir berlumpur

Evaluasi statistik dilakukan sesuai dengan ISO 5725-2. Nilai rata-rata, replitabilitas standar deviasi (s_r) dan reproduksibilitas standar deviasi (s_R) telah diperoleh (lihat Tabel A.2).

Tabel A.2 – Hasil studi perbandingan antar laboratorium penentuan pestisida organoklorin oleh GC-MS dan GC-ECD dalam tanah

Parameter	Matrix	l_0	l	n_0	n	\bar{x} mg/kg	s_R mg/kg	$C_{V,R}$ %	s_r mg/kg	$C_{V,r}$ %
α -HCH	Tanah 1	37	36	72	71	47,444	10,431	21,99	2,534	5,34
	Tanah 2	26	24	50	47	21,933	6,031	27,50	1,147	5,23
	Tanah 3	21	21	42	42	14,572	4,856	33,33	0,761	5,22
β -HCH	Tanah 1	37	36	72	70	106,882	28,75	30,725	6,258	5,86
	Tanah 2	26	25	50	48	42,629	24,32	10,367	2,546	5,97
	Tanah 3	27	26	54	52	24,988	25,24	6,307	1,299	5,20
γ -HCH	Tanah 1	38	36	74	71	7,900	1,941	24,58	0,439	5,55
	Tanah 2	26	24	50	47	2,630	0,925	35,19	0,149	5,68
	Tanah 3	28	28	56	56	4,371	1,240	28,37	0,188	4,30
δ -HCH	Tanah 1	35	33	68	64	12,531	3,516	28,06	0,929	7,41
	Tanah 2	24	21	47	41	2,218	0,516	23,25	0,104	4,68
	Tanah 3	26	26	52	52	10,088	4,182	41,45	0,458	4,54
o,p'-DDE	Tanah 1	37	31	72	61	1,753	0,406	23,14	0,121	6,89
	Tanah 2	26	22	50	43	0,803	0,311	38,81	0,038	4,73
	Tanah 3	27	25	54	50	0,705	0,199	28,27	0,038	5,42
p,p'-DDE	Tanah 1	37	36	72	70	14,767	6,209	42,05	0,916	6,20
	Tanah 2	26	24	50	47	6,683	3,521	52,69	0,280	4,19
	Tanah 3	27	26	54	52	4,403	1,549	35,18	0,272	6,18
o,p'-DDD	Tanah 1	36	34	72	70	7,318	1,967	26,87	0,379	5,18
	Tanah 2	26	23	50	50	2,980	0,908	30,47	0,239	8,02
	Tanah 3	26	26	54	52	3,019	1,054	34,93	0,199	6,60
p,p'-DDD	Tanah 1	37	35	72	68	20,192	13,230	65,52	1,248	6,18
	Tanah 2	26	22	50	43	6,967	4,043	58,04	0,304	4,37
	Tanah 3	27	25	54	50	8,153	5,141	63,06	0,419	5,14
o,p'-DDT	Tanah 1	36	35	70	68	49,008	16,872	34,43	2,317	4,73
	Tanah 2	26	24	50	47	23,956	8,950	37,36	1,555	6,49
	Tanah 3	26	26	52	52	15,053	5,108	33,93	0,604	4,01
p,p'-DDT	Tanah 1	37	37	72	72	199,985	73,808	36,91	11,826	5,91
	Tanah 2	26	25	50	49	81,298	41,120	50,58	5,961	7,33
	Tanah 3	27	27	54	54	66,689	22,921	34,37	3,045	4,57

Keterangan:

l_0 : jumlah laboratorium yang berpartisipasi
 l : jumlah laboratorium setelah eliminasi *outlier*
 n_0 : jumlah nilai pengukuran tunggal
 n : jumlah nilai pengukuran tunggal tanpa *outlier*
 \bar{x} : rata-rata total (tanpa *outlier*)
 s_R : reproduksibilitas standar deviasi
 $C_{V,R}$: koefisien variasi reproduksibilitas
 s_r : reipabilitas standar deviasi
 $C_{V,r}$: koefisien variasi pengulangan

A.2 Perbandingan antar laboratorium untuk sedimen

Dalam penentuan data reabilitas untuk penentuan pestisida organoklorin dalam sedimen, hasil dari perbandingan antar laboratorium yang dilakukan di Belanda dan diterbitkan dalam ISO 10382: 2002. Dua sedimen yang terkontaminasi secara alami (sedimen 1 dan 2, diindikasikan sebagai WC 102 dan WC 106 dalam ISO 10382) dianalisis hanya menggunakan GC-ECD untuk kuantifikasi. Lihat Tabel A.3.

Tabel A.3 – Hasil studi perbandingan antar laboratorium penentuan pestisida organoklorin menggunakan GC-ECD dalam sedimen

Parameter	Matrix	l_0	l	\bar{x} mg/kg	s_R mg/kg	$C_{V,R}$ %	s_r mg/kg	$C_{V,r}$ %
α -HCH	Sedimen 2	10	10	0,007	0,003	47,00	0,001	12,00
β -HCH	Sedimen 2	10	10	0,53	0,276	52,00	0,064	12,00
γ -HCH	Sedimen 2	10	10	0,032	0,021	66,00	0,004	11,00
p,p'-DDE	Sedimen 1	10	10	0,016	0,011	66,00	0,002	11,00
	Sedimen 2	10	10	4,400	3,740	85,00	0,528	12,00
p,p'-DDD	Sedimen 1	10	10	0,019	0,022	117,0	0,002	9,00
	Sedimen 2	10	10	110,0	56,10	51,00	6,600	6,00
p,p'-DDT	Sedimen 1	10	10	0,026	0,012	47,00	0,009	34,00
	Sedimen 2	10	10	230,0	184,0	80,00	78,20	34,00
Aldrin	Sedimen 2	10	10	3,100	1,789	58,00	0,248	8,00
Dieldrin	Sedimen 2	10	10	6,100	4,453	73,00	0,549	9,00
Endrin	Sedimen 2	10	10	0,550	0,358	65,00	0,077	14,00
α -Endosulfan	Sedimen 2	10	10	5,500	3,355	61,00	0,660	12,00
Heptaklor	Sedimen 2	10	10	0,130	0,092	71,00	0,017	13,00
Heptakloro epoksida (endo-, trans-isomer)	Sedimen 2	10	10	0,035	0,023	67,00	0,002	7,00
HCB	Sedimen 1	10	10	0,014	0,008	60,00	0,001	7,00
Pentaklorobenzena	Sedimen 1	10	10	0,007	0,005	65,00	0,001	10,00
Keterangan: l_0 : jumlah laboratorium yang berpartisipasi l : jumlah laboratorium setelah eliminasi <i>outlier</i> \bar{x} : rata-rata total (tanpa <i>outlier</i>) s_R : reproduksibilitas standar deviasi $C_{V,R}$: koefisien variasi reproduksibilitas s_r : reabilitas standar deviasi $C_{V,r}$: koefisien variasi pengulangan								

Lampiran B
(informatif)
Strategi kalibrasi

Penggunaan strategi kalibrasi tergantung pada kandungan pestisida organoklorin yang diharapkan dalam sampel dan peralatan ukur yang digunakan.

Strategi A

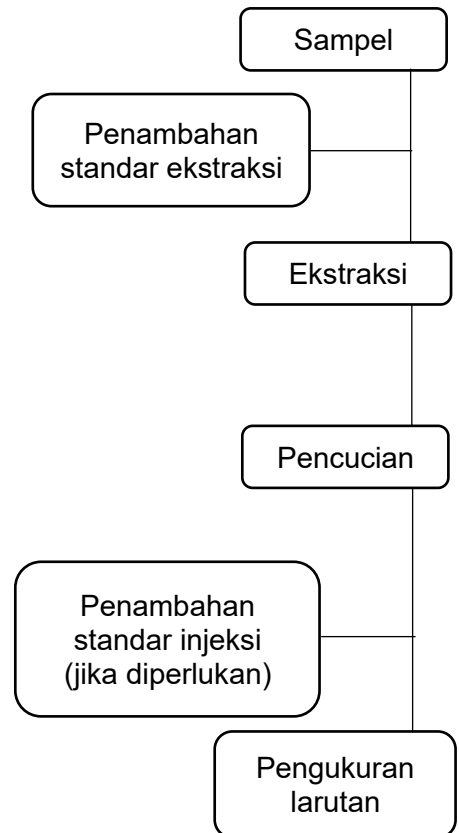
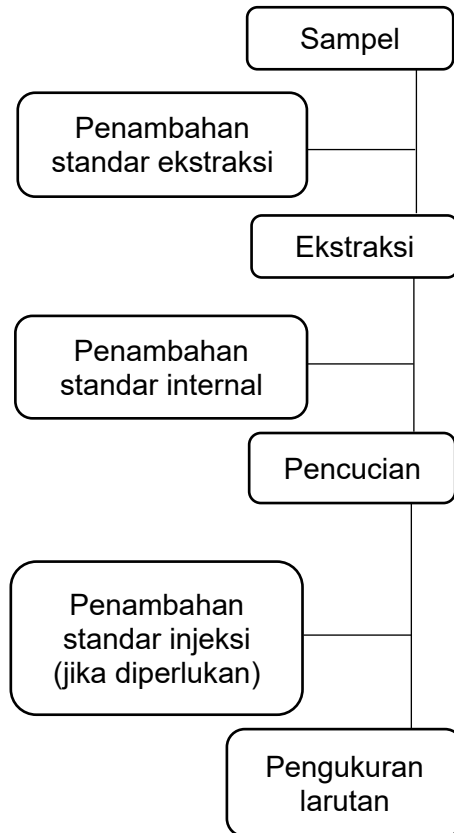
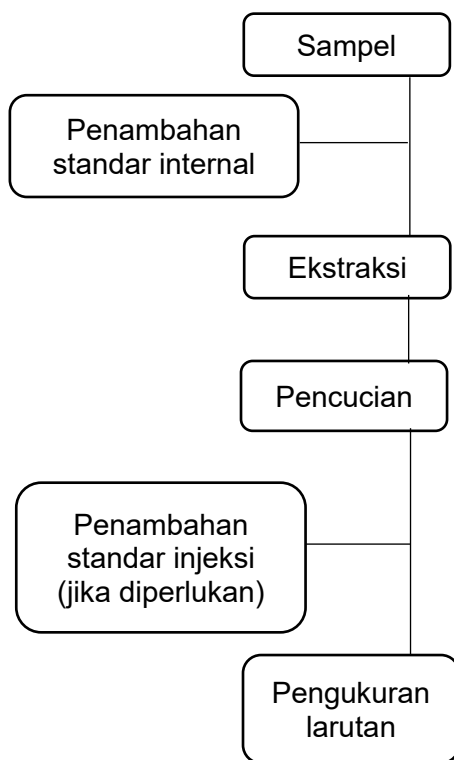
Untuk sampel tanpa informasi apa pun tentang kandungan pestisida organoklorin.

Strategi B

Untuk sampel dengan kandungan pestisida organoklorin yang tinggi.

Strategi C

Untuk membuktikan tidak adanya pestisida organoklorin.



Kalibrasi internal menggunakan standar berlabel. Kuantifikasi dengan mempertimbangkan kehilangan analit dari ekstraksi hingga pengukuran.

Kalibrasi internal menggunakan standar berlabel. Kuantifikasi dengan mempertimbangkan kehilangan analit dari pencucian hingga pengukuran.

Kehilangan selama ekstraksi sebaiknya diukur dengan membandingkan area puncak (atau tinggi puncak) standar ekstraksi dalam sampel dan dalam larutan standar kerja atau menggunakan Persamaan (4).

Kalibrasi eksternal.

Kehilangan selama dilakukannya prosedur secara keseluruhan diukur dengan membandingkan area puncak (atau tinggi puncak) standar ekstraksi dalam sampel dan dalam larutan standar kerja.

Lampiran C
(informatif)
Contoh kondisi pengukuran GC-MS/MS untuk pestisida organoklorin

GC-MS/MS: Shimadzu TQ-8050 NX³⁾

Program suhu oven: 45 °C, 2 min; 40 °C/min ke 80 °C; 10 °C/min ke 240 °C; 40 °C/min ke 320 °C, 2,15 min

Suhu injektor: 280 °C

Injeksi *splitless*: 1 min menjaga *split* tertutup, injeksi tekanan tinggi dengan 250 Pa

Program suhu oven: 60 °C, 2 min; 30 °C/min ke 120 °C; 5 °C/min ke 300 °C; 300 °C, 15 min

Liner: *Splitless liner* untuk Shimadzu GC-2030³⁾

Suhu sumber ion: 230 °C

Gas pembawa: Helium

Kolom-GC: SH-RXI XLB; 20 m × 0,18 mm I.D. × ketebalan film 0,18 µm

Tabel C.1 — Parameter GC-MS/MS

Senyawa	MRM Transisi 1	CE V	MRM Transisi 2	CE V	MRM Transisi 2	CE V
Aldrin	262,90 > 191,00	34	262,90 > 193,00	28	292,90 > 219,90	26
Dieldrin	276,90 > 241,00	8	262,90 > 193,00	34	262,90 > 228,00	24
Endrin	262,90 > 191,00	30	262,90 > 193,00	28	244,90 > 173,00	32
Isodrin	262,90 > 193,10	36	262,90 > 191,00	33	262,90 > 226,80	30
Telodrin	310,90 > 206,00	39	310,90 > 240,30	21	310,90 > 276,00	15
Heptaklor	271,80 > 236,90	20	273,80 > 238,90	16	271,80 > 117,00	32
Heptakloro epoksida (exo-, cis-isomer)	352,80 > 262,90	14	354,80 > 264,90	20	352,80 > 316,90	10
Heptakloro epoksida (endo-, trans-isomer)	352,80 > 253,00	26	354,80 > 253,00	18	354,80 > 219,00	32
α-Endosulfan	194,90 > 160,00	8	194,90 > 125,00	24	194,90 > 123,00	22
β-Endosulfan	194,90 > 160,00	8	194,90 > 125,00	24	194,90 > 123,00	22
Endosulfan sulfat	386,80 > 288,80	10	386,80 > 252,90	16	386,80 > 240,90	22
p,p'-DDE	246,00 > 176,00	30	317,90 > 248,00	24	246,00 > 211,00	22
o,p'-DDD	235,00 > 165,00	24	237,00 > 165,00	28	235,00 > 199,00	16
o,p'-DDT	235,00 > 165,00	24	237,00 > 165,00	28	235,00 > 199,00	16
p,p'-DDD	235,00 > 165,00	24	237,00 > 165,00	28	235,00 > 199,00	16
o,p'-DDE	246,00 > 176,00	30	317,90 > 248,00	24	246,00 > 211,00	22
p,p'-DDT	235,00 > 165,00	24	237,00 > 165,00	28	235,00 > 199,00	16
Metoksiklor	227,10 > 169,10	24	227,10 > 212,10	14	227,10 > 141,10	28
HCB	283,80 > 248,90	18	283,80 > 213,90	27	281,90 > 211,90	30
α-HCH	180,90 > 144,90	16	218,90 > 182,90	8	218,90 > 144,90	20
β-HCH	180,90 > 144,90	16	218,90 > 182,90	8	218,90 > 144,90	20
γ-HCH	180,90 > 144,90	16	218,90 > 182,90	8	218,90 > 144,90	20
δ-HCH	180,90 > 144,90	16	218,90 > 182,90	8	218,90 > 144,90	20

³⁾ Informasi ini diberikan untuk kemudahan pengguna Standar ini dan bukan merupakan dukungan oleh ISO untuk produk ini. Produk yang ekuivalen dapat digunakan jika dapat menunjukkan hasil yang sama.

Tabel C.1 (lanjutan)

Senyawa	MRM Transisi 1	CE V	MRM Transisi 2	CE V	MRM Transisi 2	CE V
Heksakloro-1,3-butadiena	225,00 > 190,00	15	260,00 > 225,00	15		
α -Klordan	372,80 > 263,90	28	374,80 > 265,90	26	372,80 > 265,90	22
γ -Klordan	372,80 > 263,90	28	374,80 > 265,90	26	372,80 > 265,90	22
1,2,4-Triklorobenzena	180,00 > 145,00	18	180,00 > 109,10	27	182,00 > 147,00	15
1,2,3-Triklorobenzena	180,00 > 145,00	18	180,00 > 109,10	27	182,00 > 147,00	15
1,3,5-Triklorobenzena	180,00 > 145,00	18	180,00 > 109,10	27	182,00 > 147,00	15
1,2,3,4-tetraklorobenzena	213,90 > 143,00	27	219,00 > 178,90	15	215,90 > 181,00	18
1,2,3,5-tetraklorobenzena	215,90 > 181,00	15	213,90 > 143,00	30	213,90 > 108,10	33
1,2,4,5-tetraklorobenzena	215,90 > 181,00	15	213,90 > 179,00	18	213,90 > 108,10	33
Pentaklorobenzena	249,90 > 214,90	18	251,90 > 216,90	18	247,90 > 177,90	30
1,2,3-Triklorobenzena-d3	183,00 > 148,00	12	183,00 > 111,00	9	148,00 > 111,00	9
α -HCH-d6	222,00 > 185,00	6	224,00 > 187,00	9	185,00 > 148,00	15
α -Endosulfan-d4	234,9 > 141,00	21	234,90 > 165,00	30	234,90 > 198,00	12

Bibliografi

- [1] ISO 5725-2, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method*
- [2] ISO 10382:2002, *Soil quality — Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls — Gas-chromatographic method with electron capture detection*
- [3] ISO 13528, *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison*
- [4] ISO/IEC 17043, *Conformity assessment — General requirements for proficiency testing*
- [5] EN 17322, *Environmental Solid Matrices — Determination of polychlorinated biphenyls (PCB) by gas chromatography mass selective detection (GC-MS) or electron-capture detection (GC-ECD)*
- [6] Brockmann, H., Schrodder, H. *Ber. Deut. Chem. Ges.* 74, 73 (1941)
- [7] Mülow-Stollin, U., Lehnik-Habrink, P. et al. Efficiency Evaluation of Extraction Methods for Analysis of OCPs and PCBs in Soils of Varying TOC. *Journal of Environmental Protection*. 2017, 8, 693–713

Informasi perumus SNI

[1] Komite Teknis Perumusan SNI

Komite Teknis 65-23 Sumberdaya Lahan Pertanian

[2] Susunan keanggotaan Komite Teknis Perumusan SNI

Ketua : Muhrizal Sarwani
Wakil ketua : Budi Mulyanto
Sekretaris : Setiyo Purwanto
Anggota : Rudi Eko Subandiono
Ladiyani Retno Widowati
Dewi Ratnaningsih
Diyah Novita Kurnianti
Rahmawati
Asmarhansyah
I Gusti Made Subiksa
Moh. Yanuar Jarwadi Purwanto
Setyono Hari Adi
Redny Tota Sihite
Prasetya Prio Utama
Bandung Sahari
Ismail Widadi
Foyya Yusufu Aquino
Lutfi Izhar

[3] Konseptor Rancangan SNI

Afrida Fatkhiatul Musfiroh
Agus Hasbianto
Wahida Annisa Yusuf
Ria Fauriah M.
Anik Hidayah
Elga Riesta Puteri
Baiq Nunung Sulastri
Ina Zulaehah
Ika Ferry Yuniarti
Sarah
Setiyo Purwanto
Adib Hasanawi
Eni Yulianingsih
Suharsih
Wahyu Purbalisa

[4] Sekretariat pengelola Komite Teknis Perumusan SNI

Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Sumberdaya Lahan Pertanian
Badan Standardisasi Instrumen Pertanian
Kementerian Pertanian