

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama kurang lebih lima bulan, dimulai dari bulan Maret hingga Agustus 2024, serta berlangsung pada berbagai tempat dengan rincian sebagai berikut:

1. Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia untuk melakukan preparasi, *spiking* pestisida, ekstraksi, dan analisis penurunan kandungan pestisida.
2. Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia untuk melakukan analisis ekstrak sampel menggunakan instrumentasi *GC-FID* Shimadzu 2010.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas kimia (100 mL; 250mL; 400 mL), labu ukur (5 mL dan 50 mL), gelas ukur 250 mL, tabung falcon (15 mL dan 50 mL), botol vial 2 mL, batang pengaduk, spatula, corong kaca, saringan 20 *mesh*, cawan petri 90 mm, *box* hitam, lampu UV-C (Philips, 15W, panjang 45 cm), neraca analitik (Mettler Toledo tipe ME204), termometer raksa 100°C, *hot plate*, *chopper*, statif dan klem, penjepit kayu, tabung reaksi, mikropipet (1000-5000 μ L dan 100-1000 μ L) (DragonLab), tip mikropipet, sentrifugasi (H-103n, Kokusan, Jepang), *vortex shaker* (Scilogex tipe MX-S), pH-meter, serta instrumen yang digunakan yaitu *GC-FID* Shimadzu 2010 (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan).

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu teh hijau dan teh hitam yang berasal dari Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung, larutan stok pestisida

Sipermetrin 1509,36 ppm yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Agro Jakarta, Amandha Rainy, 2024

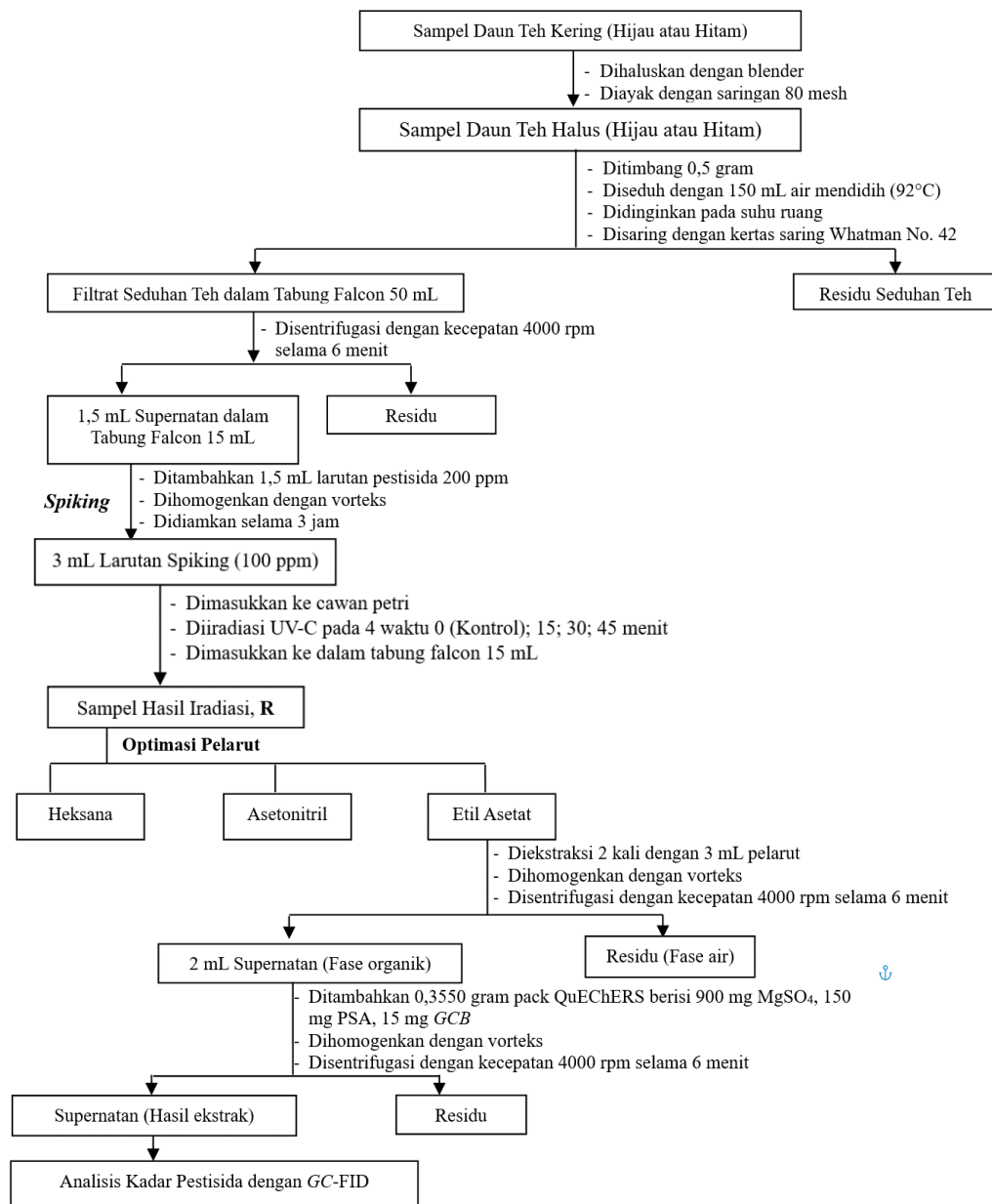
EFEKTIVITAS IRADIASI UV-C TERHADAP PENURUNAN KADAR PESTISIDA SIPERMETRIN PADA SEDUHAN TEH HIJAU DAN TEH HITAM (*Camellia sinensis*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

aseton p.a., etil asetat p.a., akuades, *QuEChERS* ($MgSO_4$ 900 mg, *PSA* 150 mg, *GCB* 15 mg), kertas saring Whatman No. 42, dan aluminium foil.

3.3. Tahapan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan modifikasi dari beberapa penelitian terdahulu Lu dkk. (2022); Dai dkk. (2021); Jaggi dkk. (2001); H. Chen dkk. (2014) meliputi lima tahapan yaitu preparasi, penambahan larutan standar pestisida (*Spiking* pestisida), iradiasi UV-C, ekstraksi, dan analisis kadar pestisida yang digambarkan pada **Gambar 3.1** sebagai berikut.



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

Amandha Rainy, 2024

EFEKTIVITAS IRADIASI UV-C TERHADAP PENURUNAN KADAR PESTISIDA SIPERMETRIN PADA SEDUHAN TEH HIJAU DAN TEH HITAM (*Camellia sinensis*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Preparasi Larutan Standar

Larutan deret standar kurva kalibrasi dibuat melalui pengenceran dari larutan baku induk sipermetrin 1509,36 ppm menjadi 30 ppm, 60 ppm, 90 ppm, dan 120 ppm dalam labu ukur 5 mL dengan pelarut aseton. Pelarut yang digunakan bersifat *pro analytical grade*, yaitu bahan kimia yang memiliki kemurnian sangat tinggi. Larutan deret standar disimpan di dalam botol vial untuk dianalisis menggunakan *GC-FID*.

3.4.2. Preparasi Seduhan Teh Hijau dan Teh Hitam

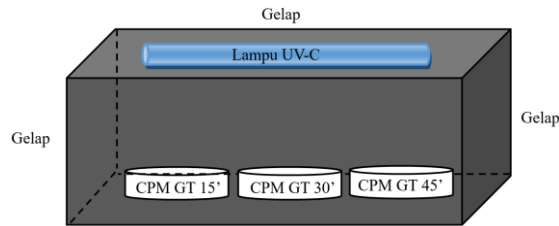
Preparasi seduhan teh berdasarkan penelitian yang telah dimodifikasi. Sampel teh kering hijau dan hitam yang diperoleh dari Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung masing-masing diblender dan dilakukan pengayakan dengan saringan 80 *mesh*. Sebanyak 0,5 gram sampel ditimbang, dilarutkan dengan 150 mL air mendidih (92°C), didinginkan hingga suhu ruang, lalu disaring dengan kertas saring Whatman No. 42 hingga didapatkan filtrat seduhan teh. Filtrat tersebut dipindahkan ke dalam tabung falcon 50 mL untuk kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 6 menit.

3.4.3. Preparasi Seduhan Teh *Spike* 100 ppm

Sebanyak 1,5 mL supernatan dari masing-masing filtrat seduhan teh diambil menggunakan mikropipet 1000-5000 μL , dimasukkan ke dalam tabung falcon 15 mL, lalu ditambahkan 1,5 mL pestisida sipermetrin 200 ppm (*final concentration* 100 ppm dalam 3 mL campuran), dihomogenkan dengan vorteks, kemudian didiamkan selama 3 jam dalam kondisi gelap. Larutan ini akan digunakan untuk sampel kontrol (0 menit) dan dengan perlakuan (UV-C 15; 30; 45 menit). Pengerjaan dilakukan secara duplo.

3.4.4. Fotodegradasi Sipermetrin dengan Iradiasi UV-C

Seduhan teh *spike* 100 ppm yang telah didiamkan selama 3 jam dipindahkan ke dalam cawan petri dan diiradiasi dengan inkubator UV-C gelap (**Gambar 3.2**) sesuai dengan variabel waktu yang ditentukan (UV-C 15; 30; 45 menit). Seluruh campuran hasil degradasi dipindahkan ke dalam tabung falcon 15 mL menggunakan mikropipet 100-1000 μL .



Gambar 3.2 Diagram Skema Iradiasi UV-C

3.4.5. Optimasi Pelarut

Sebelum dilakukan ekstraksi cair-cair pada sampel, terlebih dahulu melakukan optimasi pelarut dengan menggunakan 3 pelarut, yaitu asetonitril, heksana, dan etil asetat. Larutan teh *spike* pestisida ditambahkan pelarut ekstraksi ke dalam tabung falcon, dihomogenkan dengan vorteks, disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 6 menit. Dilihat hasil pemisahan antara fase organik dan fase air. Pelarut yang dapat mengekstrak lebih banyak pestisida akan digunakan sebagai pelarut ekstraksi pada sampel.

3.4.6. Ekstraksi Sipermetrin Pada Seduhan Daun Teh

3.4.6.1. Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi sipermetrin pada seduhan teh dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstraksi pertama, 3 mL larutan hasil iradiasi diekstrak dengan menambahkan 3 mL etil asetat *p.a.* (1:1) hingga terbentuk 2 fase (fase organik dan fase air), dihomogenkan dengan vorteks, dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 6 menit. Supernatan (fase organik) hasil ekstraksi pertama diambil sebanyak 3 mL menggunakan mikropipet 100-1000 μL , lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi (Larutan hasil ekstrak-1). Ekstraksi kedua, residu (fase air) ditambahkan kembali 3 mL etil asetat *p.a.* hingga terbentuk 2 fase (fase organik dan fase air), dihomogenkan dengan vorteks, dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 6 menit. Supernatan (fase organik) hasil ekstraksi kedua diambil sebanyak 3 mL dan ditambahkan ke dalam tabung reaksi berisi larutan hasil ekstrak-1 (6 mL campuran hasil ekstrak-1 dan ekstrak-2). Dilakukan pemekatan konsentrasi pestisida dengan memanaskan campuran ekstrak dalam penangas air (dikontrol suhu tidak melebihi titik didih pestisida) pada *hotplate* dan bantuan termometer hingga larutan berkurang menjadi volume awal (3 mL).

3.4.6.2. Clean-up QuEChERS

Hasil ekstraksi cair-cair sebanyak 3 mL diekstrak dengan *packed QuEChERS* yang sudah ditimbang sebanyak 0,3550 gram dalam tabung falcon 15 mL, dihomogenkan dengan vorteks, disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 6 menit. Supernatan diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke tabung vial untuk dianalisis menggunakan GC-FID.

3.4.7. Analisis Kadar Sipermetrin dengan GC-FID

Tabel 3.1 Kondisi Optimal GC-FID

<i>Injection Port SPL1</i>	
<i>Injection Mode</i>	<i>Split</i>
<i>Temperature</i>	280°C
<i>Carrier Gas</i>	N ₂
<i>Pressure</i>	157.0 kPa
<i>Total Flow</i>	11.0 mL/min
<i>Column Flow</i>	1.50 mL/min
<i>Linear Velocity</i>	40.3 cm/sec
<i>Purge Flow</i>	2.0 mL/min
<i>Split Ratio</i>	5.0
<i>Column Oven</i>	
<i>Initial Temperature</i>	170°C
<i>Equilibration Time</i>	0.5 min
<i>Total Program Time</i>	13.73 min
<i>Temperature</i>	170°C; hold 0 min 310°C; rate 11°C/min; hold 1 min
<i>Column Information</i>	
<i>Column Name</i>	DB-5
<i>Film Thickness</i>	0,25 µm
<i>Column Length</i>	30.0 m
<i>Inner Diameter</i>	0.25 mm ID
<i>Column Max Temp</i>	325°C
<i>Detector Channel FID</i>	
<i>Temperature</i>	310°C
<i>Signal Acquire</i>	Yes
<i>Sampling Rate</i>	40 msec
<i>Stop Time</i>	13.73 min
<i>Delay Time</i>	0.00 min
<i>Makeup Gas</i>	N ₂
<i>Makeup Flow</i>	30.0 mL/min
<i>H₂ Flow</i>	40.0 mL/min
<i>Air Flow</i>	400.0 mL/min

Dalam penelitian ini, tahapan analisis menggunakan GC-FID Shimadzu 2010 mengacu pada metode yang dimodifikasi oleh Vani dkk. (2012) dengan

beberapa penyesuaian kondisi sesuai dengan instrumen yang digunakan. Kondisi analisis yang digunakan dalam penelitian ini tertera pada **Tabel 3.1**.

Larutan deret standar (0 ppm; 30 ppm; 60 ppm; 90 ppm; 120 ppm) diinjeksikan ke dalam *GC-FID*. Berdasarkan hasil kurva standar yang diperoleh, didapatkan nilai standar deviasi (SD) dan persamaan garis lurus ($y = bx + a$) yang menghubungkan konsentrasi analit dengan luas area puncak pada masing-masing konsentrasi. Dari persamaan regresi tersebut akan didapat regresi linear koefisien korelasi (R) dan koefisien determinasi (R^2). Persyaratan regresi linear yang menyatakan data linearitas tersebut valid adalah $>0,995$ (Decision & Directive, 2023). Nilai *LOD* dan *LOQ* dapat ditentukan dengan dua cara, yaitu menentukan kadar sampel yang menghasilkan rasio *signal-to-noise* sebesar 2:1 atau 3:1 untuk *LOD*, dan 10:1 untuk *LOQ*.

Persentase degradasi sipermetrin setelah iradiasi UV-C didapatkan dari hasil analisis menggunakan instrumen *GC-FID*. Perhitungan persentase degradasi menggunakan rumus yang diperoleh dari (Widihati dkk., 2011).

$$\text{Persentase Degradasi (\% Degradasi)} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\%$$

Keterangan: C_0 = Konsentrasi awal sipermetrin (sebelum iradiasi UV-C)

C_t = Konsentrasi sipermetrin (sesudah iradiasi UV-C)