

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi penelitian

Penelitian akan dilakukan selama kurang lebih lima bulan, dimulai dari bulan maret hingga juli 2024 serta berlangsung pada berbagai tempat dengan rincian kegiatan sebagai berikut:

1. Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia untuk melakukan preparasi dan fotodegradasi.
2. Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia untuk melakukan analisis ekstrak sampel menggunakan instrumentasi *Gas Chromatography Flame Ionization Detector*.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

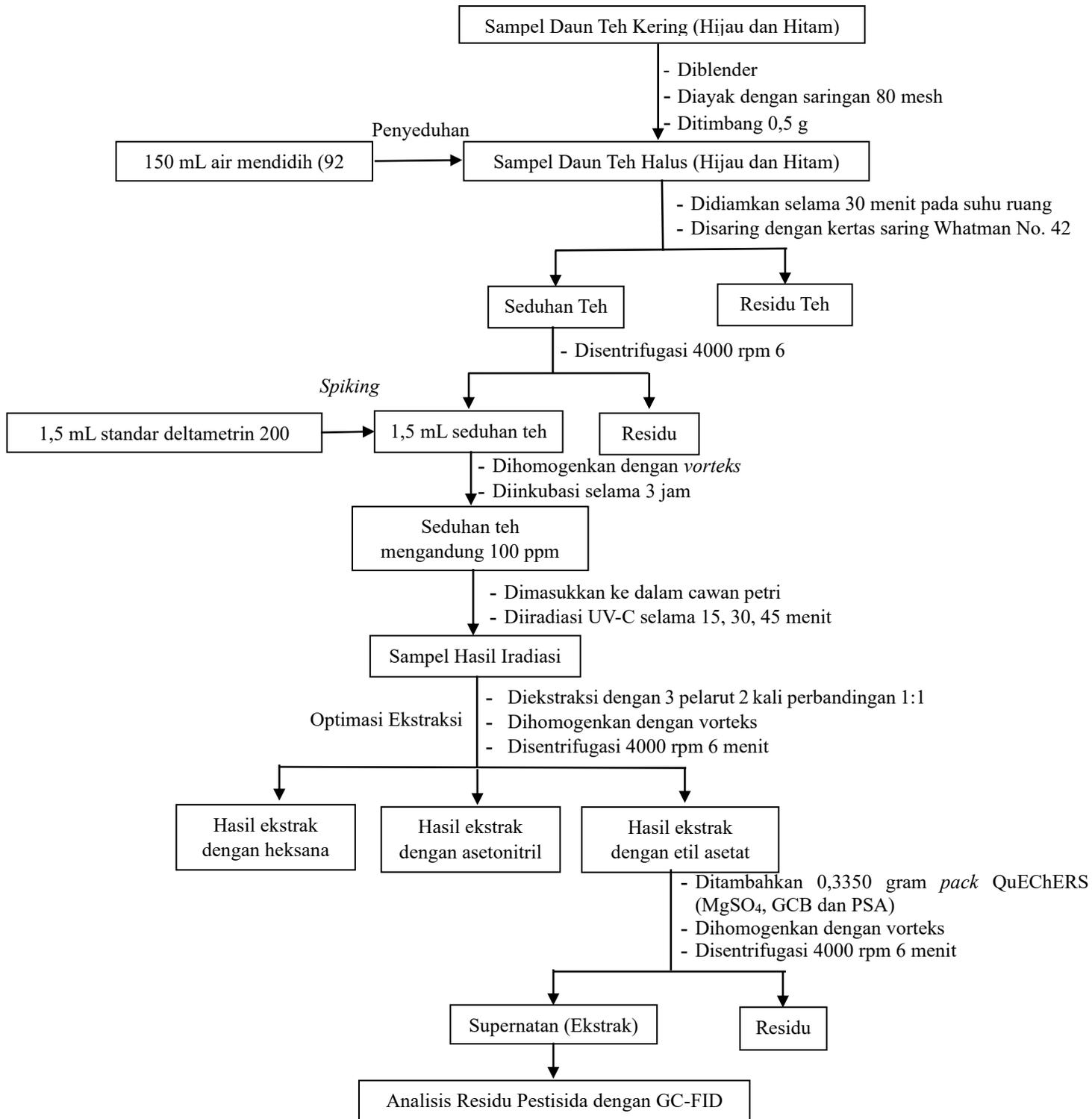
Alat yang akan digunakan dalam preparasi hingga proses fotodegradasi yaitu labu ukur (50 mL, 10 mL dan 5 mL), mikropipet 1-100 μ L, 1000-5000 μ L (Dragon Lab), *white tip* mikropipet 5000 μ L (MF Lab), *blue tip* mikropipet 100 μ L (MF Lab), *falcon tube* (50 mL dan 25 mL), blender, saringan 80 mesh, termometer, *hotplate*, batang pengaduk, pipet tetes, corong kaca, spatula, cawan petri plastik, neraca analitik (Mettler Toledo ME204), *shaker* (CH-64 Multi-shaker), lemari pendingin (GEA *freezer* Royal-Kincool), *box conrainer* hitam, lampu UV-C 15 W (philips), sentrifugasi (Kokusun H-103N), botol vial 1,5 mL, *micro-insert* untuk *autosampler*, instrumentasi *Gas Chromatography Flame Ionization Detector*.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi teh hijau dan teh hitam yang diperoleh dari Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung, kertas Whatman No. 42, aquades, aseton pro analis, etil aseatat pro analis, larutan stok pestisida deltametrin (99,7%) 1305,48 ppm yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Agro Jakarta, Set QuEChERS terdiri dari Magnesium Sulfat ; *Primary Secondary Amine* ; *Graphitized Carbon Black* dan *aluminium foil*.

3.3. Bagan Alir Penelitian

Diagram alir (**Gambar 3.1**) yang digunakan mengacu pada penelitian Dai *et al.* (2021), Lu *et al.* (2022), dan Shivani Jaggi *et al.* (2021) dengan beberapa modifikasi



Gambar 3.1. Diagram Alir Prosedur

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1. Pembuatan Larutan Standar untuk *Spiking*

Larutan standar dibuat dengan mengencerkan larutan stok pestisida deltametrin 1305,48 mg/L dalam aseton menjadi 200 mg/L. larutan standar pestisida 200 ppm dibuat menggunakan labu ukur berukuran 10 mL. dan disimpan dalam *falcon tube* untuk analisis selanjutnya pada tahap *spiking*.

3.4.2. Pembuatan Larutan Deret Standar

Kurva standar dibuat dari larutan stok pestisida deltametrin 1305,48 ppm dalam aseton yang kemudian diencerkan menggunakan aseton menjadi 30, 60, 90, dan 120 ppm. Pembuatan larutan deret standar menggunakan labu ukur 5 mL. Larutan yang telah dibuat kemudian disimpan dalam botol vial untuk kemudian digunakan membuat kurva kalibrasi standar menggunakan GC-FID.

3.4.3. Penyiapan Seduhan Teh

3.4.3.1. Pembuatan Serbuk Daun Teh

Pada penelitian ini sampel daun teh hijau dan teh hitam diblender hingga halus kemudian diayak dengan menggunakan saringan 80 mesh hingga didapatkan serbuk teh hijau dan teh hitam yang halus. Serbuk teh masing-masing kemudian ditimbang sebanyak 0,5 gram menggunakan neraca analitik untuk selanjutnya digunakan penyeduhan teh.

3.4.3.2. Penyeduhan Teh

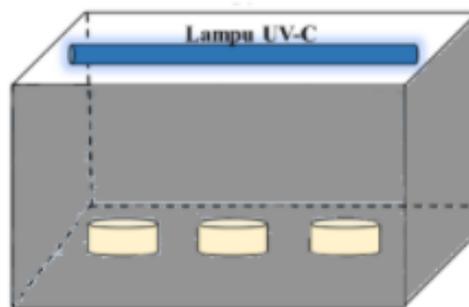
Metode ekstraksi atau penyeduhan teh merujuk pada penelitian yang dilakukan Lu *et al.*, (2022). Sebanyak 0,5 gram sampel teh hijau dan teh hitam yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam gelas kimia kemudian diseduh dengan menambahkan sebanyak 150 mL air mendidih (92 °C) dan didiamkan selama 30 menit. Seduhan teh kemudian didinginkan hingga suhu ruang kemudian disaring dengan kertas saring Whatman No. 42. Hasil penyaringan kemudian disentrifugasi selama 6 menit dengan kecepatan 4000 rpm.

3.4.4. *Spiking* dengan Pestisida Deltametrin

Sebanyak 1,5 mL larutan standar deltametrin 200 ppm ditambahkan ke dalam 1,5 mL filtrat seduhan teh hijau dan teh hitam yang telah disentrifugasi. Larutan kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vorteks selama 1 menit dan didiamkan selama 3 jam dalam kondisi gelap. Dari hasil *spiking* didapatkan konsentrasi akhir deltametrin dalam seduhan teh hijau dan teh hitam sebesar 100 ppm. Hasil dari *spiking* ini merupakan sampel seduhan teh yang akan digunakan untuk fotodegradasi menggunakan iradiasi UV-C.

3.4.5. Fotodegradasi dengan UV-C

Metode fotodegradasi diadaptasi dari (Zheng et al., 2023) dengan modifikasi (**Gambar 3.2**). Sebanyak 3 mL sampel seduhan teh hasil *spiking* dengan larutan pestisida deltametrin dimasukkan ke dalam cawan petri berukuran 100 × 50 mm dan disimpan ke dalam box yang di bagian penutupnya sudah dilengkapi dengan lampu UV-C 15 W sebagai sumber energi foton untuk fotodegradasi. Iradiasi dilakukan dengan tiga variasi waktu yaitu, 15, 30, dan 45 menit. Percobaan iradiasi dilakukan terhadap setiap sampel duplo.



Gambar 3.2. Skema Fotodegradasi

3.4.6. Ekstraksi

3.4.6.1. Ekstraksi Cair-Cair

Optimasi pelarut dilakukan berdasarkan penelitian Pitoi *et al.*, (2020) dengan menggunakan tiga jenis pelarut organik yaitu heksana, asetonitril, dan etil asetat. Ekstraksi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat. Ekstraksi dilakukan pada setiap sampel yaitu sampel kontrol dan sampel dengan iradiasi UV-C 15, 30, dan 45 menit. Ekstraksi dilakukan pada *falcon tube* berisi 3 mL sampel dan ditambahkan etil asetat sebanyak 3 mL (1:1). *Falcon tube* kemudian divorteks selama 1 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 6 menit. Fasa organik pada bagian

atas kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. dilakukan pengulangan dengan penambahan etil asetat kembali pada fasa air dan dilakukan proses yang sama seperti sebelumnya. Hasil dari fasa organik yang telah dipisahkan kemudian diuapkan menggunakan penangas air hingga didapatkan volume semula (3 mL).

3.4.6.2. Ekstraksi QuEChERS

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan *pack* QuEChERS yang terdiri dari $MgSO_4$, *Primary Secondary Amine*, dan *Graphitized Carbon Black*. QuEChERS kemudian dihomogenkan dan kemudian ditimbang sebanyak 0,3550 g. Sebanyak 2 mL ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam *falcon tube* yang telah berisi QuEChERS. *Falcon tube* kemudian dihomegenkan dengan cara divorteks selama 1 menit untuk menghomogenkan ekstrak dengan bahan QuEChERS dan kemudian disentrifugasi untuk memisahkan ekstrak dengan QuEChERS dengan mengatur kecepatan alat senstrifugasi pada 4000 rpm selama 6 menit untuk memisahkan ekstrak dan QuEChERS. Ekstrak kemudian dipipet sebanyak 1 mL ke dalam botol vial dan dibungkus dengan *aluminium foil* untuk menghindari kontak dengan cahaya. Botol vial berisi ekstrak disimpan di dalam *freezer* untuk selanjutnya digunakan dalam analisis menggunakan GC-FID.

3.4.7. Analisis dengan *Gas Chromatography Flame Ionization Detector*

Pada tahapan analisis dengan GC-FID dilakukan optimasi kondisi dalam upaya untuk mencari metode yang terbaik untuk analisis senyawa deltametrin. Metode analisis kadar deltametrin dengan *Gas Chromatography Flame Ionization Detector* yang digunakan pada penelitian kali ini diadaptasi dari metode yang dilakukan telah dilakukan oleh Vani *et al.* (2012) terhadap senyawa deltametrin. Pada penelitian ini dilakukan beberapa modifikasi hingga didapatkan kondisi alat yang optimum untuk dilakukan analisis kuantitatif. Kondisi alat GC-FID yang optimum tertera pada **Tabel 3.1**. Kondisi alat ini digunakan untuk menginjek setiap sampel dari mulai sampel untuk kurva kalibrasi, sampel kontrol (tanpa iradiasi UV-C) dan sampel dengan iradiasi UV-C (15, 30, dan 45 menit).

Tabel 3.1. Kondisi Alat *Gas Chromatography Flame Ionization Detector*

Injection Port SPL1	
<i>Injection Mode</i>	<i>Split</i>
<i>Temperature</i>	280 °C
<i>Carrier Gas</i>	N ₂
<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
Column Oven	
<i>Initial Temperature</i>	170 °C
<i>Total Program Time</i>	15.73 min
<i>Temperature</i>	170 °C; hold 0 min 310 °C; rate 11C/min; hold 3 min
Column Information	
<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
Detector Channel	
<i>Temperature</i>	310 °C
<i>Signal Acquire</i>	Yes
<i>Sampling Rate</i>	40 msec
<i>Stop Time</i>	13.73 min
<i>Makeup Gas</i>	N ₂
<i>Makeup Flow</i>	50.0 mL/min
<i>H₂ Flow</i>	100.0 mL/min
<i>Air Flow</i>	80.0 mL/min