

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan kuantitatif yang bertujuan untuk menganalisis cemaran residu pestisida pada anggur *Shine Muscat* (*Vitis vinifera* L.) yang dijual di daerah Karawang. Rancangan penelitian ini meliputi beberapa tahap, dimulai dengan pengambilan sampel anggur dari beberapa lokasi di kota Karawang yang menjual anggur muscat. Sampel akan diberi pelarut yang kemudian akan di filtrasi akan untuk memisahkan residu pestisida yang ada di dalam sampel tersebut. Selanjutnya, analisis akan dilakukan menggunakan HPLC untuk mendeteksi dan mengukur kadar residu pestisida yang ada. Data yang diperoleh akan dianalisis secara statistik untuk menentukan tingkat cemaran residu pestisida dan membandingkannya dengan Batas Maksimum Residu (BMR) yang ditetapkan oleh badan regulasi.

3.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Jatinangoriense, Laboratorium Biosistemika dan Molekuler, Departemen Biologi, FMIPA Universitas Padjajaran, Jawa Barat. Tumbuhan yang digunakan untuk determinasi yaitu tumbuhan anggur *Shine Muscat* (*Vitis vinifera* L.).

3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Buana Perjuangan Karawang yang berlokasi di Kabupaten Karawang, Jawa Barat selama tiga bulan dari bulan Mei hingga Juli 2025.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat HPLC (Azura), sonikator, laptop (Bluechip), vakum filter, neraca analitik, alu dan lumpang, pipet tetes, labu ukur (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), erlenemeyer (Pyrex), dan corong (Pyrex).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel anggur *Shine Muscat* di kota Karawang, pestisida dengan nama dagang Chlormite, Metanol Pro Analisis (Merck), Diklorometana Pro Analisis (Merck), larutan buffer pH 7, akuades, kertas saring Whatman no. 42, dan aluminium foil.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah sampel anggur *Shine Muscat* (*Vitis vinifera* L.) dengan perlakuan pencucian dan tanpa pencucian. Perlakuan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh proses pencucian terhadap kadar residu pestisida yang tertinggal pada permukaan buah anggur.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar residu pestisida yang terkandung dalam buah anggur *Shine Muscat* (*Vitis vinifera* L.) dengan metode HPLC. Pengukuran kadar residu pestisida dilakukan untuk menilai kadar residu pestisida yang tersisa pada sampel setelah diberi perlakuan tertentu.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Satuan/Skala	Alat Ukur
Variabel Bebas			
Sampel anggur <i>Shine Muscat</i>	Perlakuan terhadap sampel anggur <i>Shine Muscat</i> , dengan pencucian dan tanpa pencucian, untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar residu pestisida	Kategori sampel berdasarkan perlakuan	Perlakuan manual pada sampel sebelum analisis
Variabel Terikat			
Kadar Residu Pestisida pada buah anggur <i>Shine Muscat</i>	Analisis kadar residu pestisida pada sampel menggunakan HPLC	mg/kg	HPLC
Presisi	Ukuran seberapa konsisten atau mendekati satu sama	Rasio Angka	HPLC

	lain hasil-hasil pengukuran berulang		
Linearitas	Kemampuan metode analisis untuk memperoleh hasil pada konsentrasi analit dalam rentang tertentu	Rasio angka	HPLC
LOD	Konsentrasi terendah suatu senyawa yang masih dapat dideteksi keberadaannya oleh alat	Rasio Angka	HPLC
LOQ	Konsentrasi terendah suatu senyawa yang dapat dikuantifikasi secara akurat dan presisi dengan metode tersebut	Rasio Angka	HPLC
Akurasi	Parameter yang menunjukkan tingkat kedekatan antara hasil pengukuran dengan konsentrasi sebenarnya dari analit	Rasio Angka	HPLC

3.7 Populasi Sampel

3.7.1 Populasi

Sampel diambil dari tiga titik yaitu pedagang tiga lokasi berbeda di wilayah Karawang Kota, yaitu minimarket, supermarket, dan toko buah segar.

3.7.2 Sampel

Sampel anggur muscat diambil secara acak dan dikumpulkan sampai jumlah yang dibutuhkan lalu sampel dibungkus menggunakan aluminium foil dan disimpan dalam wadah yang tertutup.

3.8 Pembuatan Larutan Standar Pestisida

Larutan induk dengan konsentrasi 100 mg/L dibuat dari pestisida Chlormite 505 EC Plus, yang diencerkan dalam labu ukur 10 mL menggunakan diklorometana hingga tanda batas. Variasi larutan standar pestisida dengan konsentrasi (0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 mg/L) dan diencerkan dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas menggunakan diklorometana.

3.9 Perlakuan Sampel Anggur *Shine Muscat* Tanpa Pencucian

Sampel anggur *Shine Muscat* bagian kulit dan daging buah ditimbang 15 g lalu dihaluskan menggunakan lumpang dan alu, kemudian dimasukkan kedalam gelas piala, setelah itu ditambahkan 50 mL diklorometana. Sampel anggur muscat disaring menggunakan kertas saring whatman no.42 dan filtrat ditampung dengan labu ukur 50 mL kemudian dicukupkan hingga tanda batas, masing-masing perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan (triplo).

3.10 Perlakuan Pencucian Sampel Anggur *Shine Muscat* dengan Akuades

Sampel anggur muscat yang telah dicuci tiga kali menggunakan akuades. Sampel anggur *Shine Muscat* bagian kulit dan daging buah masing-masing dihaluskan menggunakan lumpang dan alu kemudian dimasukkan kedalam gelas piala lalu dilarutkan menggunakan diklorometana sebanyak 50 mL. Ekstrak disaring dan filtrat ditampung pada labu ukur 50 mL dan dicukupkan hingga tanda batas.

3.11 Analisis Pestisida Anggur *Shine Muscat* HPLC

Larutan ekstrak dari masing-masing anggur *Shine Muscat* dan larutan standar pestisida dengan konsentrasi (0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 mg/L) diinjeksikan kedalam alat HPLC dengan fase diam kolom C18 dengan fase gerak air:metanol (70:30) dengan pH 7 dengan laju alir 0,5 mL/menit.

3.12 Analisis Data

3.12.1 Presisi

Presisi dinilai dari keterulangan pengukuran luas area puncak kromatogram larutan standar pestisida dengan konsentrasi 2 ppm pada kondisi HPLC optimum, Pengerjaan dilakukan 3 kali, lalu dihitung simpangan baku relatif (SBR) atau koefisien variasi (KV) (Saiya *et al.*, 2017).

$$\% KV = SD / (\text{Rata - rata kadar zat uji}) \times 100 \% \quad (3.1)$$

3.12.2 Linearitas dan Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi diperoleh dengan mengukur luas area puncak kromatogram larutan standar pestisida 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 ppm pada kondisi HPLC optimum, kemudian dikorelasikan dengan

konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi dan nilai koefisien korelasi (Saiya *et al.*, 2017).

Berdasarkan data absorban yang diperoleh dari larutan standar, dibuat kurva kalibrasi dan dihitung persamaan regresi linear dengan persamaan sebagai berikut:

$$y = bx + a \quad (3.2)$$

Keterangan:

b = kemiringan (*slope*)

a = konstanta (*intersep*)

x = variabel bebas

y = variabel terikat

3.12.3 Limit Of Detection (LOD) dan Limit Of Quantitation (LOQ)

Dalam penelitian ini, nilai batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) ditentukan secara statistik berdasarkan regresi linier dari kurva kalibrasi. Perhitungan LOD menggunakan rumus:

$$LOD = \frac{3 S \left(\frac{y}{x} \right)}{b} \quad (3.3)$$

Sedangkan untuk menghitung LOQ menggunakan rumus:

$$LOQ = \frac{10 S \left(\frac{y}{x} \right)}{b} \quad (3.4)$$

$S_{(y/x)}$ merupakan simpangan baku residual yang mencerminkan sebaran data terhadap garis regresi dan slope menunjukkan kemiringan garis tersebut (Saiya *et al.*, 2017).

3.12.4 Akurasi

Akurasi merupakan parameter yang menunjukkan tingkat kedekatan antara hasil pengukuran dengan konsentrasi sebenarnya dari analit. Evaluasi akurasi dapat dilakukan melalui teknik penambahan analit (*spiking*) ke dalam matriks sampel dengan konsentrasi tertentu.

Uji akurasi dilakukan dengan penambahan larutan standar pembanding sebanyak 2 ppm, 4 ppm, dan 6 ppm kedalam sampel angurr *Shine Muscat* dengan kadar residu terendah. kemudian diukur

luas puncaknya pada kondisi HPLC optimum. Pengerjaan dilakukan 3 kali untuk masing-masing konsentrasi (Aziz *et al.*, 2020). % Recovery dihitung dengan rumus:

$$\% Recovery = \frac{A-B}{C} \times 100\% \quad (3.5)$$

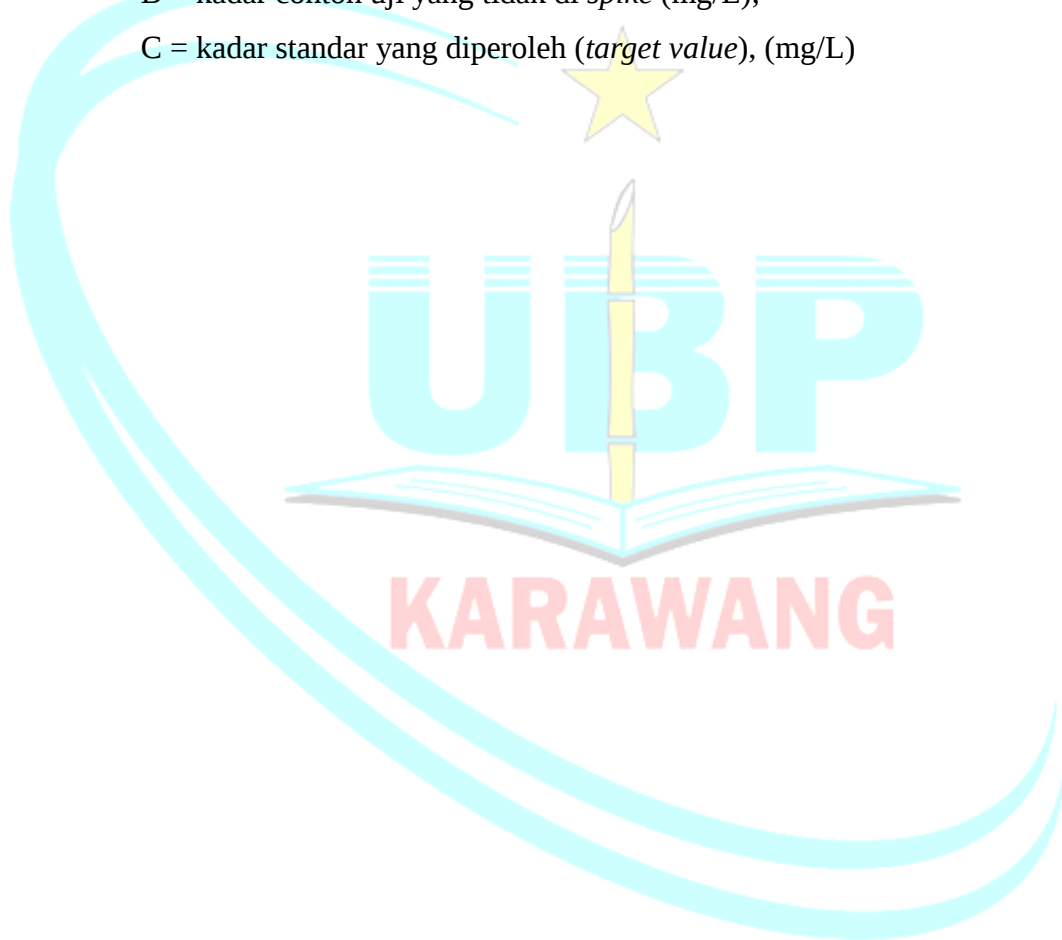
Keterangan:

R = recovery

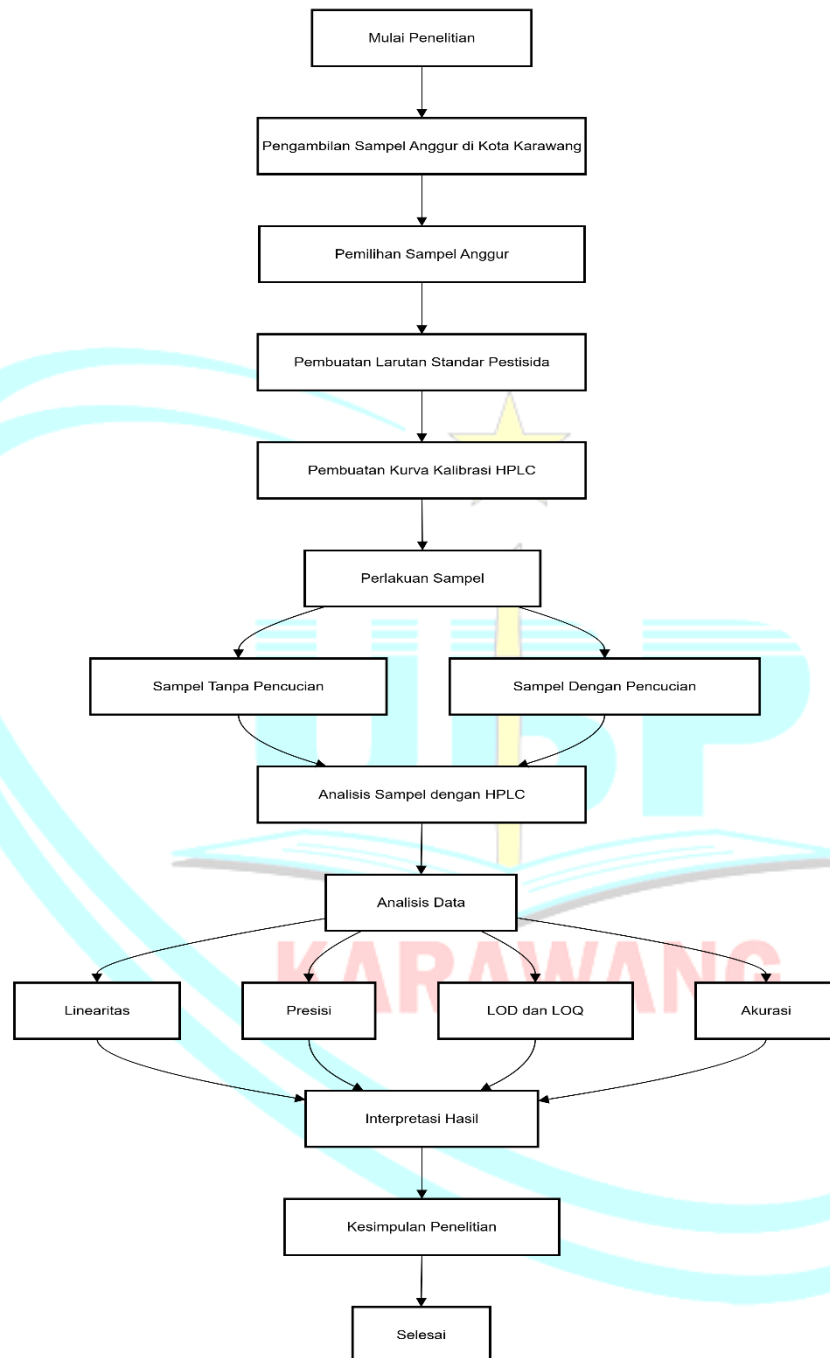
A = kadar contoh uji yang di *spike* (mg/L);

B = kadar contoh uji yang tidak di *spike* (mg/L);

C = kadar standar yang diperoleh (*target value*), (mg/L)



3.13 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian