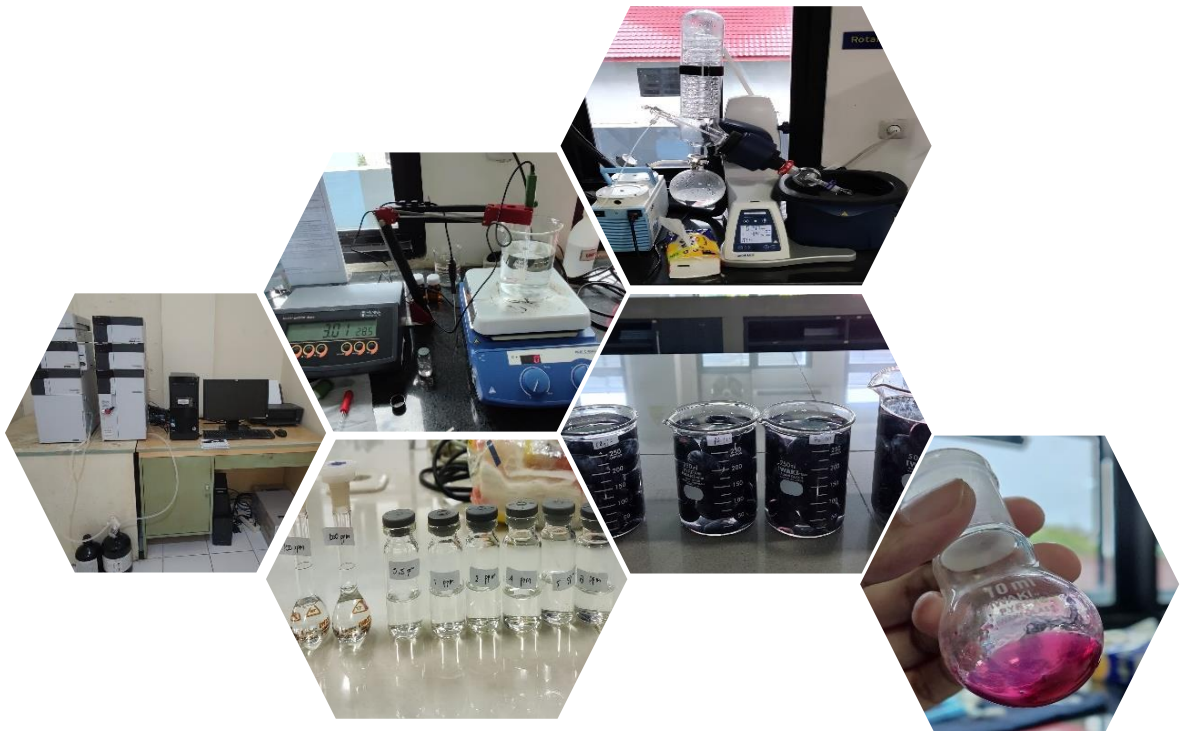


**VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN KADAR RESIDU PESTISIDA  
DALAM BUAH ANGGUR HITAM (*Vitis vinifera*) IMPOR YANG BEREDAR DI  
KOTA MAKASSAR**



**AULIA RAMADHANI ACHMAR  
N011 17 1028**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN KADAR RESIDU PESTISIDA  
DALAM BUAH ANGGUR HITAM (*Vitis vinifera*) IMPOR YANG BEREDAR DI  
KOTA MAKASSAR**

**AULIA RAMADHANI ACHMAR  
N011 17 1028**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN KADAR RESIDU PESTISIDA  
DALAM BUAH ANGGUR HITAM (*Vitis vinifera*) IMPOR YANG BEREDAR DI  
KOTA MAKASSAR**

AULIA RAMADHANI ACHMAR  
N011 17 1028

Skripsi

sebagai salah satu syarat mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada



**PROGRAM STUDI FARMASI  
DEPARTEMEN FARMASI SAINS DAN TEKNOLOGI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**SKRIPSI**

**VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN KADAR RESIDU PESTISIDA  
DALAM BUAH ANGGUR HITAM (*Vitis vinifera*) IMPOR YANG BEREDAR DI  
KOTA MAKASSAR**

**AULIA RAMADHANI ACHMAR**  
**N011 17 1028**

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi pada tanggal  
15 Agustus 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
pada

Program Studi Farmasi  
Departemen Farmasi Sains Dan Teknologi  
Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.  
NIP. 19630801 199003 1 001

Dr. Risliah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt  
NIP. 19780716 200312 2 001

Mengetahui:

Ketua Program Studi,



Dr. Sri Hasanudin, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Residu Pestisida dalam Buah Anggur Hitam (*Vitis Vinifera*) Impor yang Beredar di Kota Makassar" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin

Makassa, 15 Agustus 2024



Aulia Ramadhani Achmar  
NIM N011 17 1028





## Ucapan Terima Kasih

Alhamdulillah Rabbil 'alamin segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan karunia-Nya, berupa kesehatan, kekuatan ilmu dan waktu yang begitu berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kesulitan yang dihadapi dan tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Penulis banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak. Maka dari itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Dr.Syahrudin Kasim, M.Si., Apt sebagai Pembimbing Utama dan Dr.Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. sebagai Pembimbing Pendamping yang dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan ilmunya dalam memberikan bimbingan, arahan, dan saran-saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini sampai akhir. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. dan Dr.Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.

Kepada dekan, wakil dekan,pimpinan program studi serta staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan dan dukungan yang diberikan selama menempuh studi. Kepada Abdul Rahim, S.Si.,M.Si.,Ph.D.,Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi. Kepada seluruh laboran laboratorium yang senantiasa membantu penulis dalam mengerjakan penelitian dan atas kesempatan untuk menggunakan fasilitas serta peralatan di laboratorium. Kepada Andi Affandi,M.Sc., Apt yang telah meluangkan waktu memberikan bantuan dan ilmunya.

Ucapan terima kasih kepada orang tua penulis Ayahanda Drs.H.Achmar dan Ibunda (Almh) Dra.Hj.Hartini serta Ibunda Hj.Nurjannah yang selalu memberikan semangat, motivasi, kasih sayang, doa yang tulus, serta dukungan moral dan material yang selalu mengiringi langkah penulis dan juga saudara/ipar penulis yang selalu memberikan dukungan.

Terima kasih kepada teman-teman angkatan "CLOSTRIDIUM" yang kebersamaan penulis dan memberikan semangat untuk bisa menyelesaikan skripsi ini.

Penulis,



Aulia Ramadhani Achmar



## ABSTRAK

AULIA RAMADHANI ACHMAR. **Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Residu Pestisida dalam Buah Anggur Hitam (*Vitis Vinifera*) Impor yang Beredar di Kota Makassar** (dibimbing oleh Syaharuddin Kasim dan Risfah Yulianty)

**Latar Belakang.** Penggunaan pestisida yang intensif oleh petani menyebabkan kemungkinan adanya residu pestisida dalam buah-buahan, terutama buah-buahan yang biasanya di konsumsi dalam bentuk bahan mentah seperti anggur hitam (*Vitis vinifera*). Adanya residu dalam buah-buahan berpotensi membahayakan kesehatan konsumen. Produksi buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) sering kali menggunakan pestisida untuk meningkatkan hasil panen, namun rawan residu pestisida yang tinggi karena cepat dipengaruhi oleh hama. Salah satu kelompok pestisida yang biasa digunakan oleh petani buah adalah dari kelompok kimia karbamat yaitu karbaril. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode analisis penetapan kadar residu pestisida karbaril dalam buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor yang beredar di kota Makassar dengan mengukur nilai parameter validasi. **Metode.** Analisis penetapan kadar residu pestisida dalam buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) menggunakan alat HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) yang telah dilakukan validasi metode analisis dengan parameter uji linearitas, uji akurasi dan presisi, batas deteksi dan batas kuantifikasi, uji kesesuaian sistem, dan uji stabilitas. **Hasil.** Validasi metode analisis dilakukan pada berbagai parameter uji, untuk memvalidasi alat. Penentuan penetapan kadar residu pestisida pada buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) tidak didapatkan adanya residu pestisida. **Kesimpulan.** Berdasarkan hasil pengukuran pada sampel buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) yang diperoleh dari 4 toko buah yang berbeda tidak terdeteksi adanya residu pestisida karbaril dalam analisis. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pestisida karbaril pada buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor yang beredar di kota makassar tidak terdeteksi.

Kata kunci: buah anggur hitam, karbaril, pestisida, validasi



## ABSTRACT

AULIA RAMADHANI ACHMAR. **Validation of the Analysis Method for Determining Pesticide Residue Levels in Imported Black Grapes (*Vitis Vinifera*) Circulating in Makassar City** (supervised by Syaharuddin Kasim and Risfah Yulianty)

**Background.** Intensive use of pesticides by farmers causes the possibility of pesticide residues in fruit, especially fruit that is usually consumed in raw form such as black grapes (*Vitis vinifera*). The presence of residues in fruit has the potential to endanger consumer health. Production of black grapes (*Vitis vinifera*) often uses pesticides to increase yields, but is prone to high pesticide residues because it is quickly affected by pests. One group of pesticides commonly used by fruit farmers is from the carbamate chemical group, namely carbaryl. **Aim** This study aims to validate the analytical method for determining carbaryl pesticide residue levels in imported black grapes (*Vitis vinifera*) circulating in the city of Makassar by measuring the validation parameter values. **Method.** Analysis of pesticide residue levels in black grapes (*Vitis vinifera*) using HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) which has been validated as an analysis method with parameters such as linearity test, accuracy and precision test, detection limit and quantification limit, system suitability test, and stability test. **Results.** Validation of the analytical method is carried out on various test parameters, to validate the tool. Determination of pesticide residue levels on black grapes (*Vitis vinifera*) found no pesticide residues. **Conclusion.** Based on the measurement results on samples of black grapes (*Vitis vinifera*) obtained from 4 different fruit shops, no carbaryl pesticide residue was found in the analysis. This shows that the use of carbaryl pesticide on imported black grapes (*Vitis vinifera*) circulating in the city of Makassar did not detect the presence of carbaryl pesticide residue compounds.

Keyword: black grapes, carbaryl, pesticide, validation





# DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	2
I.3 Tujuan Penelitian .....	2
BAB II METODE PENELITIAN.....	3
II.1 Alat dan Bahan .....	3
II.1.1 Alat.....	3
II.1.2 Bahan .....	3



.....	3
kromatografi .....	3
.....	3
.....	3

II.2.4 Uji akurasi dan presisi.....	3
II.2.5 Pengukuran LOD dan LOQ.....	4
II.2.6 Uji kesesuaian sistem .....	4
II.2.7 Uji stabilitas.....	4
II.2.8 Penyiapan pelarut .....	4
II.2.9 Persiapan sampel .....	4
II.2.10 Proses ekstraksi pestisida.....	5
II.2.11 Analisis kualitatif dan kuantitatif .....	5
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN .....	6
III.1 Hasil Penelitian .....	6
III.1.1 Hasil uji linearitas .....	6
III.1.2 Hasil Uji akurasi dan presisi.....	6
III.1.3 Hasil pengukuran LOD dan LOQ .....	7
III.1.4 Hasil uji kesesuaian sistem .....	7
III.1.5 Hasil uji stabilitas .....	8
III.1.6 Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif.....	8
III.2 Pembahasan.....	9
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN .....	13
IV.1 Kesimpulan.....	13
IV.2 Saran.....	13
DAFTAR PUSTAKA.....	14
LAMPIRAN .....	16



## DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Hasil pengukuran parameter uji linearitas .....	6
2. Hasil pengukuran parameter uji akurasi dan presisi .....	7
3. Hasil pengukuran LOD dan LOQ .....	7
4. Hasil pengukuran parameter uji kesesuaian sistem .....	8
5. Hasil pengukuran uji stabilitas.....	8
6. Hasil pengukuran analisis kualitatif dan kuantitatif.....	9



## DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Kurva baku linearitas antara konsentrasi karbaril dan luas area .....	6
2. Struktur kimia karbaril .....	9
3. Reaksi karbaril dalam asam fosfat .....	12
4. Penimbangan baku pestisida karbaril .....	20
5. Pembuatan larutan baku dan seri konsentrasi .....	20
6. Alat HPLC .....	20
7. Pembuatan larutan asam fosfat pH 3.....	20
8. Ekstrasi sampel dari residu pestisida.....	20
9. Alat Rotary Evaporator.....	20
10. Kurva baku akurasi presisi replikasi 1 antara konsentrasi karbaril dan luas area ...	44
11. Kurva baku akurasi presisi replikasi 2 antara konsentrasi karbaril dan luas area ...	44
12. Kurva baku akurasi presisi replikasi 3 antara konsentrasi karbaril dan luas area ...	44



**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor urut	Halaman
1. Skema Kerja .....	16
2. Dokumentasi Penelitian .....	20
3. Data Kromatogram HPLC .....	21
4. Perhitungan.....	40
5. <i>Curriculum Vitae</i> .....	45



**DAFTAR SINGKATAN**

<b>Istilah</b>	<b>Arti dan Penjelasan</b>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
RSD	Relative Standar Deviation
RE	Relative Error
r	Koefisien korelasi
LOD	Limit batas deteksi
LOQ	Limit batas kuantitasi
y	Regresi linear
a	Intercept
b	Slope
Y'	Luas area berdasarkan persamaan regresi linear
Sy	Standar deviasi respon





## BAB I PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Penggunaan pestisida baik di negara-negara maju maupun yang sedang berkembang telah terbukti berhasil meningkatkan hasil produksi pertanian. Penggunaan pestisida sebagai pembunuh hama tanaman meningkat seiring dengan meningkatnya kebutuhan pangan di dunia karena bertambahnya jumlah penduduk. Peningkatan kebutuhan manusia akan pangan menuntut usaha pertanian dapat berproduksi dalam skala besar sehingga mampu mencukupi kebutuhan yang diinginkan. Pemanfaatan teknologi terbukti dapat mencukupi kebutuhan pangan manusia karena mampu menghasilkan hasil panen lebih banyak dan menyediakan berbagai cara yang efisien berhubungan dengan produksi pangan dengan waktu yang cepat, diantaranya mengembangkan mesin-mesin canggih dan bahan-bahan kimia yaitu pestisida untuk mengendalikan hama dan menyuburkan tanaman serta menciptakan berbagai varietas baru yang mampu menghasilkan panen yang lebih banyak (Maisyaroh et al., 2014).

Pestisida merupakan bahan kimia, campuran bahan kimia, atau bahan-bahan lain yang bersifat bioaktif. Pada dasarnya pestisida adalah racun, dan setiap racun berpotensi mengandung bahaya bagi kesehatan dan lingkungan (Djojsumarto, 2008). Pestisida juga bersifat polutan sehingga dapat menyebarkan radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan organ tubuh, mutasi gen, dan gangguan saraf pusat. Pestisida yang disemprotkan ke tanaman akan masuk dan meresap ke dalam sel-sel tumbuhan, termasuk ke bagian akar, batang, daun, dan buah. Jika buah atau daun ini dikonsumsi oleh manusia maka racun atau residu bahan kimia beracun ikut masuk ke dalam tubuh manusia (Tjachjono, 2012). Penggunaan pestisida yang intensif oleh petani menyebabkan kemungkinan adanya residu pestisida dalam buah-buahan, terutama buah-buahan yang biasanya dikonsumsi dalam bentuk bahan mentah seperti buah anggur hitam (*Vitis vinifera*).

Buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) mengandung flavonoid yang memiliki sifat kardioprotektif, antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antimikroba. Selain itu juga merupakan salah satu *nutraceutical* dalam produk makanan (Georgiev, Ananga and Tsoleva, 2014). Buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) banyak dikonsumsi karena memiliki nutrisi yang baik menjadikan produksi buah anggur hitam menjadi signifikan. Produksi buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) sering kali menggunakan pestisida untuk meningkatkan hasil panen, namun rawan residu pestisida yang tinggi karena cepat dipengaruhi oleh hama (Grimalt and Dehouck, 2016; Qin et al., 2015). Salah satu kelompok pestisida yang biasa digunakan oleh petani buah adalah dari kelompok kimia karbamat, baik kategori fungisida, herbasida, maupun insektisida (Djojsumarto and Pustaka, 2020).



Salah satu insektisida karbamat yang digunakan untuk serangga pada tanaman hias, buah dan sayuran. Karbaril (1-naftil-merupakan insektisida berspektrum luas yang persistensinya efektif terhadap berbagai serangga, tungau, kutu, dan hama lainnya baik industri maupun komersial (Australia, 2006). Hasil pertanian yang baik yang berasal dari dalam negeri maupun luar negeri tidak boleh menggunakan pestisida karbaril melebihi batas maksimum residu yaitu 5 mg/kg.

Adanya residu dalam buah-buahan, sayuran, tanah, dan permukaan air berpotensi membahayakan kesehatan konsumen. (Kesehatan dan Menteri, 1996; [TAS] Thai Agricultural Standard National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2008).

Pestisida golongan karbamat bersifat termolabil yang mempersulit penentuan secara kromatografi gas atau spektrofotometri lain yang melibatkan suhu tinggi secara signifikan sehingga dapat terdekomposisi pada suhu normal. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah salah satu alat pemisahan yang sering digunakan untuk penetapan residu pestisida jenis karbamat karena sifatnya yang termolabil maka penetapan dilakukan pada suhu rendah.

Validasi metode analisis merupakan proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai. Validasi metode analisis dilakukan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis yang digunakan sudah sesuai (To and Compendia, 2021). Oleh karena itu, sebuah metode sederhana, sensitif, dan dapat diandalkan untuk menganalisis residu pestisida karbaril dalam sampel sangat diperlukan.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah metode yang digunakan pada penetapan kadar residu pestisida karbaril dalam buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor yang beredar di kota Makassar dapat memenuhi syarat parameter validasi.

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Untuk menentukan validitas metode analisis penetapan kadar residu pestisida karbaril dalam buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor yang beredar di kota Makassar dengan mengukur nilai parameter validasi.



## BAB II METODE PENELITIAN

### II.1 Alat dan Bahan

#### II.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas kimia (*Pyrex*<sup>®</sup>), sentrifugasi (*Eba*<sup>®</sup>), filter, *hotplate & stirrer* (*Ika*<sup>®</sup>), HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), kertas saring whatman no.40, pH meter, *rotary evaporator*, spoit 3 mL (*OneMed*<sup>®</sup>), timbangan analitik (*Denver*<sup>®</sup>), vial HPLC.

#### II.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam fosfat, *aqua pro injection*, buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor, karbaril, metanol HPLC.

### II.2 Metode Kerja

#### II.2.1 Kondisi analisis kromatografi

Larutan standar karbaril diinjeksikan ke dalam alat HPLC dengan menggunakan fase gerak metanol:air (v/v) = 55:45. Kecepatan alir yang digunakan adalah 1 mL/menit dengan volume injeksi 10 µl, suhu kolom yang digunakan 40°C, dan dianalisis pada panjang gelombang 268 nm dengan waktu analisis selama 7 menit (Ji et al., 2021).

#### II.2.2 Larutan induk

Larutan induk dibuat sebanyak 1000 µg/ml dengan menimbang baku karbaril sebanyak 5 mg lalu dilarutkan dalam 5 ml pelarut yang sesuai. Disimpan dalam botol coklat, tertutup rapat dan terhindar dari kelembaban dan cahaya, kemudian disimpan pada suhu <-10°C. Dilakukan pengenceran dari larutan induk untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi yang rendah.

#### II.2.3 Uji linearitas

Larutan standar karbaril dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8; dan 10 µg/mL direplikasi 3 kali pada masing-masing konsentrasi, kemudian diinjeksikan ke dalam alat HPLC. Perbandingan luas puncak yang diperoleh dicatat dan dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan garis linear ( $y=a+bx$ ), kemudian dihitung koefisien korelasinya (International Council for Harmonisation, 2022).

#### II.2.4 Uji akurasi dan presisi

Larutan standar karbaril dengan konsentrasi 2; 6; dan 10 µg/mL diinjeksikan ke alat HPLC dengan kondisi terpilih dan direplikasi sebanyak 3 kali pada masing-masing konsentrasi. Akurasi diwakili oleh *Relative Errors (RE%)* sedangkan presisi oleh *Relative RSD* (Harmita, 2004).



### II.2.5 Pengukuran LOD dan LOQ

Pengukuran LOD dan LOQ dihitung dari persamaan garis linear kurva kalibrasi dengan rumus:

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum(Y - Y')^2}{n - 2}}$$

$$LOD = \frac{3.3 S_y}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 S_y}{b}$$

Keterangan:

Y : Luas area puncak

Y' : Luas area berdasarkan persamaan regresi linear

n : Jumlah konsentrasi

S<sub>y</sub> : Standar deviasi respon

b : Slope persamaan regresi linear

LOD : Limit batas deteksi

LOQ : Limit batas kuantitasi

(International Council for Harmonisation, 2022).

### II.2.6 Uji kesesuaian sistem

Larutan standar karbaril dengan konsentrasi 6 µg/mL diinjeksikan ke dalam alat HPLC dengan kondisi analisis terpilih. Prosedur diulangi sebanyak 3 kali. Kemudian dihitung jumlah plat teoritis, asimetrisitas, dan %RSD (International Council for Harmonisation, 2022).

### II.2.7 Uji stabilitas

Larutan standar karbaril dengan konsentrasi 6 µg/mL direplikasi sebanyak 9 kali, masing-masing 3 replikasi disimpan dalam berbagai kondisi penyimpanan dan perlakuan yaitu pada suhu ruang (26±2°C), pada suhu 20°C, dan dalam wadah *autosampler* selama 48 jam. Sampel dianalisis dan dibandingkan hasil pengukurannya dengan sampel awal sebelum dilakukan perlakuan (International Council for Harmonisation, 2022).

### II.2.8 Penyiapan pelarut

Pelarut asam fosfat dibuat dalam lemari asam dengan mencampurkan *aqua pro injection* dan asam fosfat ke dalam erlenmeyer secara perlahan hingga pH mencapai 3.



Sampel

buah anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor dikumpulkan dari pasar dan dipisahkan dari batang buah.

### II.2.10 Proses ekstraksi pestisida

Sampel buah segar anggur hitam (*Vitis vinifera*) impor diekstraksi dengan cara ditimbang sebanyak 300 g buah segar anggur hitam (*Vitis vinifera*) dan direndam pelarut asam fosfat pH 3 hingga menutupi keseluruhan bagian buah selama 1 jam. Sampel disaring menggunakan kertas saring whatman no.40 dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 80°C kecepatan 65 rpm. Distilat yang hampir kering ditambahkan metil alkohol hingga 1 mL, kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit (Rao and Kumar, 2012).

### II.2.11 Analisis kualitatif dan kuantitatif

Destilat hasil ekstraksi disaring dengan filter *whatman* no.40 dan dipindahkan ke vial HPLC sebanyak 1-1,5 ml untuk di analisis pada HPLC dengan menggunakan fase gerak metanol:air (v/v) = 55:45. Kecepatan alir 1 mL/menit dengan volume injeksi 10 µl, suhu kolom yang digunakan 40°C, dan dianalisis pada panjang gelombang 268 nm dengan waktu analisis selama 7 menit (Ji et al., 2021).

