

## **BAB III**

### **TATA KERJA**

#### **3.1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi toples kaca; spatel; kain flanel; *waterbath*; cawan penguap; neraca analitik (Ohaus); oven (Memert); blender; vial coklat 10 mL; labu ukur 25 mL; mikro pipet; tip mikro pipet; kertas saring Whatman no. 42; *microwave digestion* (Milestones); seperangkat Spektrofotometer Serapan Atom (Agilent); seperangkat LCMS/MS (*QMicro QAA 842*); dan alat-alat gelas di laboratorium kimia.

#### **3.2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel buah mengkudu yang diperoleh dari tiga tempat tumbuh berbeda (Bandung, Yogyakarta, Surabaya); HNO<sub>3</sub> p.a (Merck); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> p.a (Merck); HNO<sub>3</sub> 0,1N; NaBH<sub>4</sub> 1%; HCl 5M; dan akuades.

#### **3.3. Metode Penelitian**

Rangkaian alur dan prosedur penelitian yang akan dilakukan meliputi:

##### **3.3.1. Pengumpulan Sampel**

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari tiga tempat tumbuh berbeda (Bandung, Yogyakarta, Surabaya).

##### **3.3.2. Determinasi**

Identifikasi tanaman/determinasi dilakukan untuk memastikan bahan yang digunakan benar-benar buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).

##### **3.3.3. Penyiapan Simplisia**

Buah mengkudu pascapanen, berwarna putih kekuningan merata, dan daging buah masih keras, sebanyak 5 kg dicuci bersih. Buah ditiriskan dan dipotong-potong (dirajang) tipis, lalu dipisahkan daging buah dan bijinya. Daging buah dikeringkan dengan oven pada suhu 50<sup>0</sup>C. Proses pengeringan dilakukan sampai potongan buah benar-benar kering, mudah

dipatahkan dengan tangan. Daging buah yang kering selanjutnya dibuat serbuk (simplisia) dengan cara dihancurkan menggunakan alat blender. Setelah itu disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari.

#### 3.3.4. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode perebusan (infusa). Sampel berupa simplisia buah mengkudu ditimbang sebanyak 100 g kemudian dilakukan perebusan dengan penambahan 1500 mL akuades pada suhu 90<sup>0</sup>C selama 15 menit. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam cawan dan diuapkan dengan *waterbath* pada suhu 50<sup>0</sup>C hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 3.3.5. Penetapan Cemar Aflatoksin

Dalam pengujian cemaran aflatoksin, digunakan instrumen LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*) tipe *QMicro* QAA 842 dan detektor MS-MS *Waters Quatro Micro*. Larutan sampel sebanyak 5 µL dimasukkan pada kolom LC dengan laju alir 0,2 mL/menit. Sampel tersebut akan diubah menjadi fase gas yang akan terionisasi dalam kondisi vakum. Ion-ion tersebut diakselerasi oleh medan elektrik atau magnetik, yang terukur sebagai rasio massa terhadap muatan (*m/z*). Temperatur kolom yang digunakan adalah 50<sup>0</sup>C. Pemisahan senyawa kimia terjadi di dalam kolom dengan bantuan pompa menggunakan tekanan 300 Bar. Hasil pemisahan dengan LC dilanjutkan ke MS untuk diidentifikasi komponen senyawa kimia, termasuk aflatoksin.

#### 3.3.6. Penetapan Cemar Logam Berat

##### A. Pembuatan Larutan Standar Logam Pb, Cd, dan As

##### 1. Pembuatan Larutan Standar Logam Pb

Dipipet 100, 200, 400, 600, 800, dan 1000 µL larutan baku Pb 10 µg/mL masing-masing ke dalam labu ukur 10,0 mL lalu ditambahkan HNO<sub>3</sub> 0,1 N sampai tanda batas (diperoleh larutan standar konsentrasi 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, dan 1,0 µg/mL).

## 2. Pembuatan Larutan Standar Logam Cd

Dipipet 100, 200, 400, 600, 800, dan 1000  $\mu\text{L}$  larutan baku Cd 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  masing-masing ke dalam labu ukur 10,0 mL lalu ditambahkan  $\text{HNO}_3$  0,1 N sampai tanda batas (diproleh larutan standar konsentrasi 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, dan 1,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

## 3. Pembuatan Larutan Standar Logam As

Dipipet 100, 200, 300, 400, dan 500  $\mu\text{L}$  larutan baku As 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  masing-masing ke dalam labu ukur 10,0 mL lalu ditambahkan  $\text{HNO}_3$  0,1 N sampai tanda batas (diproleh larutan standar konsentrasi 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, dan 5,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

### B. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan mengukur berbagai konsentrasi larutan standar logam-logam yang akan dianalisis dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang optimal sesuai dengan larutan standar yang diukur. Nilai absorbansi dan konsentrasi diplotkan dalam sebuah kurva regresi linier, kemudian ditentukan persamaan garisnya. Linieritas yang baik ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi  $\geq 0,98$ .

### C. Pengukuran Kadar Cemaran Logam Berat

Sampel ditimbang  $\pm 500$  mg di dalam *vessel*, ditambahkan 8,0 mL  $\text{HNO}_3$  p.a. dan 2,0 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  p.a., kemudian didestruksi dengan *microwave digestion* selama 85 menit pada suhu  $270^\circ\text{C}$ . Hasil destruksi didinginkan kemudian disaring dengan kertas saring Whatman no. 42 ke dalam labu ukur 10,0 mL, ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan sampel tersebut kemudian diukur dengan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Maksimal cemaran logam Pb dalam ekstrak tidak melebihi 10 mg/kg, logam Cd tidak melebihi 0,3 mg/kg, dan tidak boleh mengandung logam As (Saifudin dkk., 2011).