

## BAB IV

### PROSEDUR KERJA

#### 4.1 Pengambilan Sampel

Sampel wafer diambil dari *mini market*, diambil sebanyak dua kali. Sampel dikumpulkan kemudian disiapkan untuk dilakukan prosedur analisis selanjutnya.

#### 4.2 Ekstraksi TBHQ dari Sampel

Sampel dihancurkan dan dihaluskan kemudian ditimbang 10 gram dan dimasukkan ke dalam labu 100 mL. Kemudian ditambahkan 45 mL MeOH/ACN. Campuran itu selanjutnya divortex dan disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit. Fase supernatan disimpan di dalam *freezer* selama minimal 1 jam.

#### 4.3 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif TBHQ dengan Metode KCKT

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi yang digunakan adalah KCKT Agilent 1220 dengan kondisi analisis kromatografi sebagai berikut:

Kolom : Zorbax ® Eclipse XDB-C18, 4.6 mm × 150 mm, 3.5 µm

Fase gerak : metanol : asetonitril : asam asetat 1 % (70 : 10 : 20)

Laju alir : 1 mL/min

Detektor UV : panjang gelombang 280 nm

Volume injeksi : 20 µL

#### **4.3.1 Penetapan kadar TBHQ dalam sampel wafer**

Sampel yang sudah di preparasi dan didapat fase supernatan. Ambil 1 mL fase supernatan lalu masukkan dalam labu ukur dan tambahkan dengan fase gerak hingga volume 10 mL kemudian kocok hingga homogen. Lakukan penyaringan dengan menggunakan nylon filter Acrodisk 25mm x 0.45µm. Setelah didapat larutan uji analisis dengan HPLC UV pada panjang gelombang 280 nm.

#### **4.4 Penyiapan Larutan Baku Induk**

Larutkan 50 mg baku pembanding TBHQ dengan metanol dan asetonitril dalam labu takar 50 ml hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok ini kemudian dapat diencerkan untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi yang diinginkan.

#### **4.5 Pembuatan Kurva Baku**

Larutan baku TBHQ 1000 ppm yang telah dibuat sebelumnya diencerkan menjadi 500 ppm yaitu dengan cara mengambil 25 ml larutan standar, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 50 ml dengan methanol. Larutan stok diambil sebanyak 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL , 1,2 mL dan 1,4 mL, kemudian masing-masing dilarutkan dalam labu ukur 25 ml dengan fase gerak (metanol: asetonitril) sehingga diperoleh konsentrasi 8; 12; 16; 20; 24; 280 ppm. Kemudian dilakukan penyuntikan tiga kali dari satu konsentrasi larutan baku dan dilakukan penyuntikan berulang masing-masing tiga kali.

## 4.6 Verifikasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

### 4.6.1 Linieritas

Dari larutan TBHQ standar 500 ppm dibuat deret penggunaan larutan standar dengan memipet masing-masing 8; 12; 16; 20; 24, dan 28 ppm, kemudian diinjeksikan ke dalam kolom KCKT. Dari hasil pengukuran dibuat kurva luas area puncak terhadap konsentrasi, kemudian dihitung koefisien korelasi ( $R^2$ ) ~ 1.

### 4.6.2 Presisi

Sampel yang telah ditambahkan standar TBHQ konsentrasi 8 ppm diekstraksi sebanyak tiga kali, kemudian. Kemudian setiap sampel yang diekstraksi diukur sebanyak tiga kali. Selanjutnya dilakukan prosedur penetapan kadar seperti yang telah disebutkan diatas. Dirumuskan dengan persamaan :

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\% \quad (3)$$

**Keterangan:**

RSD = Standar Deviasi Relatif (%)  
SD = Standar deviasi  
X = kadar rata-rata sampel

### 4.6.3 Akurasi

Ekstrak sampel yang akan diekstraksi ditambahkan TBHQ konsentrasi masing-masing 8; 20, dan 28 ppm. Selanjutnya dilakukan prosedur ekstraksi dan penetapan kadar yang telah disebutkan diatas, masing-masing dilakukan sebanyak dua kali.

Dari hasil pengukuran dihitung persen (%) perolehan kembali (*recovery*), dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{A-B}{C} \times 100\% \quad (4)$$

**Keterangan:**

A = konsentrasi sampel yang diperoleh setelah penambahan bahan baku

B = konsentrasi sampel sebelum penambahan bahan baku

C = konsentrasi baku yang ditambahkan

**4.7 Uji Kesesuaian Sistem**

Larutan baku disuntikan sebanyak 6 kali. Kemudian dicari nilai RSD, syarat nilai RSD yang memenuhi syarat yaitu  $< 2\%$ .

**4.8 Batas Deteksi (*Limit of Detection / LOD*) dan Batas kuantifikasi (*Limit of Quantification/ LOQ*)**

Penentuan batas deteksi LOD dan LOQ menggunakan prosedur yang sama dengan uji linieritas kemudian dianalisis dengan membuat data kadar spike yang berbeda-beda (X), tinggi noise (N), tinggi sinyal atau puncak (S) dan perbandingan konsentrasi spike (X) terhadap respon S/N (Y) dan dibuat persamaan garis regresi kurva linier:  $y = bx + a$ . Berdasarkan kurva linier tersebut, kemudian dihitung nilai LOD dan LOQ dengan menggunakan rumus: LOD = harga nilai X pada S/N = 3, sedangkan nilai LOQ = harga nilai X pada S/N = 10. Untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) digunakan rumus :

$$SB = \frac{(Y-Y_i)^2}{n-2} \quad (5)$$

$$LOD = \frac{3 \times SB}{Slope} \quad (6)$$

$$LOQ = \frac{10 \times SB}{Slope} \quad (7)$$

**Keterangan:**

SB = simpangan baku

LOD = batas deteksi

LOQ = batas kuantitasi

