

## VALIDASI METODE UJI AMONIA (NH<sub>3</sub>) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS 2600

Ni Nyoman Trisnawati\*, Ni Putu Ayu Krismayanti, Putu Primantari Vikana Suari,  
Laboratorium Analitik UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Udayana, Badung, Bali, Indonesia,  
80361

[\\*trisna68@gmail.com](mailto:*trisna68@gmail.com)

**ABSTRAK:** Salah satu laboratorium yang menunjang kegiatan Tri Dharma Perguruan Tinggi di Universitas Udayana adalah Laboratorium Analitik. Laboratorium ini memberikan fasilitas dalam hal praktikum dan praktik kerja lapangan kepada mahasiswa, membantu penelitian dosen ataupun mahasiswa, dan melayani masyarakat untuk uji sampel dalam bidang fisika serta kimia. Parameter uji yang sering dilakukan oleh mahasiswa, dosen, maupun masyarakat adalah amonia (NH<sub>3</sub>). Adanya kandungan amonia dalam perairan dapat mempengaruhi pertumbuhan biota dan ekosistem perairan. Amonia juga dapat membahayakan manusia hingga menyebabkan gangguan ginjal dan paru-paru jika terpapar dengan kadar yang tinggi. Metode uji amonia menggunakan larutan standar amonia yang dibuat dari senyawa amonium klorida (NH<sub>4</sub>Cl). Larutan standar ini belum bersertifikat (CRM), sehingga validasi standar perlu dilakukan guna membuktikan larutan standar itu memenuhi syarat guna dimanfaatkan dalam metode uji, dan data yang diperoleh dapat dipercaya serta akurat. Penelitian ini bertujuan untuk memastikan bahwa metode uji amonia menggunakan spektrofotometer uv-vis 2600 sudah valid. Validasi metode yang dipergunakan yakni uji linieritas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ. Pada penelitian ini, diperoleh nilai  $r = 0,9999$ , persen recovery yakni 90 - 110% dan masuk dalam rentang yang ditetapkan, persen RSD < nilai 2/3 CV Horwitz, LOD 0,0494 mg/L, LOQ 0,1647 mg/L dan telah terkonfirmasi. Data hasil yang didapatkan telah sesuai persyaratan, maka itu larutan standar amonia dari senyawa amonium klorida (NH<sub>4</sub>Cl) dapat digunakan dan sudah valid sebagai standar dalam metode uji amonia di Laboratorium Analitik.

**Kata kunci:** larutan standar amonia, spektrofotometer uv-vis 2600, validasi metode

**ABSTRACT:** One of the laboratories that supports Tri Dharma Perguruan Tinggi activities at Udayana University is the Laboratorium Analitik. This laboratory provides facilities in terms of practicum and field work practice to students, assists student or lecturer research, and serves the community for sample testing in the fields of chemistry and physics. The parameter that is often tested by students, lecturers, and the public is ammonia (NH<sub>3</sub>). The presence of ammonia in waters can affect the growth of biota and aquatic ecosystems. Ammonia can also be harmful to humans, causing kidney and lung problems if exposed to high levels. The ammonia test method uses a standard ammonia solution made from ammonium chloride (NH<sub>4</sub>Cl). This standard solution has not been certified (CRM), so standard validation needs to be carried out to prove that the standard solution meets the requirements for use in the test method, and the data obtained is reliable and accurate. This study aims to ensure that the ammonia test method using a uv-vis 2600 spectrophotometer is valid. The method validation used is linearity, precision, accuracy, LOD and LOQ tests. In this study, the value of  $r = 0,9999$  was obtained, the percent recovery was 90 - 110% and was within the specified range, the percent RSD < 2/3 CV Horwitz value, LOD 0,0494 mg/L, LOQ 0,1647 mg/L and has been confirmed. The resulting data are in accordance with the requirements, so that the standard ammonia solution from the ammonium chloride (NH<sub>4</sub>Cl) can be used and is valid as a standard in the ammonia test method in the Laboratorium Analitik.

**Keywords:** ammonia standard solution, method validation, spectrophotometer uv-vis 2600

## 1 PENDAHULUAN

Laboratorium Analitik UPT Laboratorium Terpadu ialah penunjang Tri Dharma Perguruan Tinggi sebagai salah satu laboratorium pendidikan di Universitas Udayana dan berada dibawah Rektor. Laboratorium ini membantu penelitian mahasiswa dan dosen serta membantu masyarakat dalam melayani pengujian fisika dan kimia terhadap sampel limbah, makanan, air, kompos, tanah, dan bahan lainnya. Agar diperoleh hasil uji yang akurat terpercaya, diperlukan metode uji yang valid, SDM yang berkualitas dan kompeten, sehingga mampu melayani secara efisien dan efektif agar terjadi kepuasan pelanggan.

Parameter yang sering dilakukan di Laboratorium Analitik adalah uji amonia dengan instrumen Spektrofotometer UV-Vis 2600 merek Shimadzu. Amonia merupakan salah satu indikator pencemaran udara dan air yang dapat diketahui melalui bentuk kebauan. Amonia dapat berwujud gas, cair, dan padat, yang memiliki aroma menyengat dan berbahaya jika terpapar secara langsung melalui kontak pada kulit tubuh maupun terhirup dalam durasi yang lama dan dalam jumlah yang besar. Amonia banyak dipergunakan saat proses industri seperti bahan kimia, produksi urea, serta produksi kertas [1]. Juga diperlukan sebagai sumber energi bakteri aerobik dalam proses nitrifikasi. Namun bila limbah amonia dibuang ke perairan dalam konsentrasi tinggi dan tanpa pengolahan sehingga melebihi ambang batasan berdasar PP No. 82 Tahun 2001 dalam air sungai ialah 0,5 mg/L, akan sangat berbahaya untuk ekosistem perairan, mampu mengganggu hampir seluruh organisme serta makhluk hidup lain [2]. Pada pengolahan air minum, adanya kandungan amonia 0,2 mg/L pun dapat menurunkan efisiensi desinfeksi sehingga untuk melakukan desinfeksi diperlukan klorin dalam dosis yang lebih tinggi lagi, karena campuran klorin dan amonia akan bereaksi

membentuk produk sampingan yang mampu mengubah bau dan mengganggu rasa, merusak sistem saraf manusia, hingga bersifat karsinogenik [3].

Penentuan kandungan amonia dapat dilakukan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis 2600 dengan larutan standar amonia yang berasal dari senyawa Amonium Klorida ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ). Larutan standar amonia yang digunakan belum bersertifikat (Certificate reference material/CRM) hingga butuh dilaksanakan validasi standar untuk membuktikan larutan standar yang dipergunakan memenuhi syarat SNI [4] hingga bisa dianggap data yang didapat sepanjang penelitian ialah capaian yang baik serta bisa dipercaya [5]. Perihal itu selaras pada sistem manajemen mutu standar Indonesia (ISO-17025 : 2017) yakni mewajibkan laboratorium uji mempergunakan metode ukur yang valid saat menganalisis sampel. Berdasar penjabaran, maka hendak dilaksanakan validasi larutan standar amonia pada penelitian ini untuk memastikan bahwa metode uji amonia menggunakan Spektrofotometer UV-Vis 2600 sudah valid sehingga mampu menciptakan data penelitian yang akurat serta bisa dipercaya.

## 2 PERCOBAAN

### 2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang diperlukan ialah  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , pereaksi Nessler ( $\text{KI}$ ,  $\text{HgI}_2$ ,  $\text{NaOH}$ ),  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$  ( $\text{KNa-tartrat}$ )/garam rochelle, akuades, dan kertas saring. Alat yang dipergunakan ialah oven, gelas beker, neraca analitik, tabung reaksi, vorteks, pipet volume, pipet ukur, labu ukur, pipet tetes, batang pengaduk, *ball filler*, spatula, botol, kuvet, dan Spektrofotometer UV-Vis 2600 merek Shimadzu.

### 2.2 Metode

#### Pembuatan larutan induk standar amonia 1000 mg/L

Sebanyak kurang lebih 1,5 gram  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dioven pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 2

jam. Pembuatan larutan induk amonia 1000 mg/L dilakukan dengan cara menimbang secara teliti serbuk  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sebanyak 0,9548 gram yang telah dikeringkan tersebut kemudian dilarutkan mempergunakan akuades di dalam labu ukur 250 mL.

#### **Pembuatan larutan standar amonia**

Larutan induk diencerkan secara bertahap menjadi konsentrasi yang lebih kecil untuk mengurangi faktor kesalahan dalam pemipetan, kemudian diencerkan jadi konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; dan 5,0 mg/L. Larutan ini dibuat masing-masing 10 kali [6].

#### **Preparasi larutan standar amonia**

Blanko (dipergunakan akuades) dan variasi larutan standar yang telah dibuat, masing-masing dipipet sebanyak 10 mL, lalu ditambahkan 1 tetes larutan garam rochelle. Larutan tersebut selanjutnya dikocok menggunakan vorteks dan ditambahkan 0,2 mL reagen Nessler, dan dikocok kembali dengan vorteks. Campuran didiamkan selama 10 menit untuk proses pembentukan warna [7].

#### **Pengujian larutan standar amonia**

Absorbansi larutan standar ditentukan panjang gelombang 420 nm dengan alat Spektrofotometer UV-Vis 2600. Absorbansi yang diperoleh diolah untuk menentukan linieritas, akurasi, presisi, LOD, serta LOQ, sebagai persyaratan validasi metode.

### **3 HASIL DAN PEMBAHASAN**

Salah satu indikator pencemaran udara dan air yang dapat diketahui melalui bentuk kebauan adalah amonia. Keberadaannya dapat dideteksi melalui bau yang tajam pada konsentrasi rendah yakni 1-5 ppm [8]. Amonia dalam air ada berwujud amonia terionisasi yang memiliki konsentrasi racun yang rendah, dan amonia tidak terionisasi yang bersifat racun hingga dapat mengganggu saraf pada biota contohnya ikan. Adanya kandungan amonia yang melebihi ambang batasan berdasar

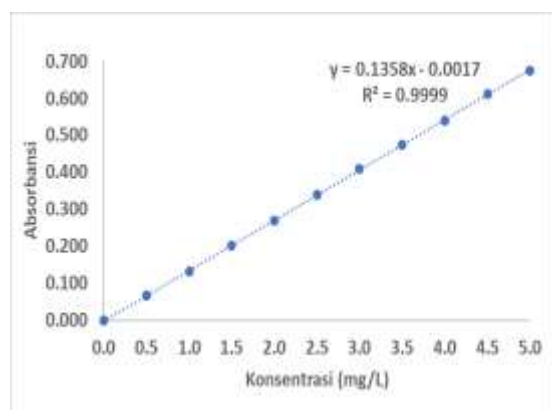
Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 ialah 0,5 mg/L [9] dalam air sungai akan sangat berbahaya untuk ekosistem perairan, mampu mengganggu hampir seluruh organisme serta makhluk hidup lain. Bila terpapar hingga pada tingkatan tertentu dan jumlahnya melebihi yang dapat didetoksifikasi oleh tubuh dapat mengakibatkan gangguan fungsi pada organ seperti paru-paru dan menurunnya sensitivitas indera penciuman [10]. Maka dari itu, amonia merupakan salah satu parameter yang sering diuji keberadaannya baik pada air maupun bahan lainnya di Laboratorium Analitik Universitas Udayana. Agar diperoleh hasil yang dapat dipercaya dan akurat, selain SDM yang kompeten perlu juga metode uji dan larutan standar yang valid.

Pada penelitian ini dilakukan validasi standar amonia dengan larutan standar amonia yang terbuat dari senyawa Amonium Klorida ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ). Pengukuran larutan standar amonia dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi larutan yang diukur mempergunakan Spektrofotometer UV-Vis mampu ditetapkan melalui hukum Lambert-Beer, yakni absorbansi berbanding lurus bersama konsentrasi larutan. Adapun metode yang digunakan ialah metode Nessler yang memiliki prinsip ketika reagen Nessler ditambah kedalam larutan garam ammonium encer, dalam suasana basa amonia yang terbebas akan bereaksi menciptakan senyawa kompleks yang warnanya kuning hingga coklat yang tetap dilarutan koloidal, dan akan menggumpal jika dibiarkan lama [11]. Pada metode Nessler terdapat gangguan berupa kekeruhan, warna air, ion-ion magnesium, kalsium besi, dan sulfida, sehingga bila contoh uji tanpa destilasi, harus menggunakan larutan KNa Tartrat (garam Rochelle) atau larutan alkali dan  $\text{ZnSO}_4$  guna mencegah gangguan sulfida, ion Mg, Ca, dan Fe yang bisa memunculkan kekeruhan. Dengan tambahan larutan itu, ion pengganggu akan mengendap.

Variasi larutan standar dibuat sebanyak 10 kali dan masing-masing ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis. Setelah data diperoleh, dilakukan tahap seleksi data yakni membuang data menggunakan perhitungan batas kepercayaan sebagai acuan. Tujuan seleksi data ini adalah untuk mengetahui jarak relatif antara nilai rata-rata kumpulan data dengan nilai yang dicurigai mempunyai potensi yang menyimpang. Berdasarkan hasil pengukuran, dapat diketahui apakah nilai yang berpotensi menyimpang tersebut dapat digabung atau dibuang dari data yang lain untuk selanjutnya dihitung.

### Uji Linieritas

Uji linieritas ialah kemampuan metode analisis dalam memberikan respon langsung atau menggunakan bantuan transformasi matematik yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Cara agar mengetahui metode analisis memiliki kemampuan dalam memperoleh hasil yang benar maka perlu dilakukan penentuan linieritas, yang diperoleh dengan cara mengukur absorbansi larutan standar amonia yang telah dibuat dan dipreparasi. Dari pengukuran tersebut akan diperoleh data untuk membuat kurva kalibrasi sehingga persamaan regresi dan koefisien korelasi ( $r$ ) dapat dihitung. Kurva kalibrasi terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan Absorbansi dan Konsentrasi Larutan Standar Amonia dalam Kurva Kalibrasi

Pada gambar tersebut dapat dilihat persamaan regresi yang didapat yakni  $y = 0,1358x - 0,0017$  dengan nilai  $R^2 = 0,9999$  sehingga dapat dihitung  $r = 0,9999$ . Nilai  $r$  yang ditentukan harus lebih besar daripada 0,995, menandakan adanya korelasi antara absorbansi dan konsentrasi. Nilai  $r$  pada penelitian ini sudah memenuhi syarat sehingga uji linieritas dianggap valid.

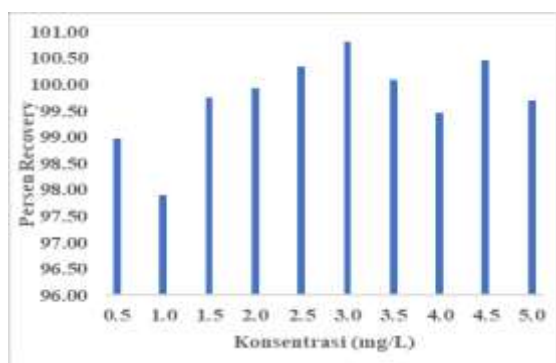
### Uji LOD dan LOQ

LOD disebut juga batas deteksi. LOD ialah jumlah analit terkecil pada sampel yang mampu terdeteksi dan memberikan respon signifikan dibanding blanko. Nilai LOD didapat setelah perhitungan teoritis adalah 0,0494 mg/L. Selanjutnya LOQ atau yang disebut batas kuantitasi ialah kuantitas analit terkecil pada sampel yang masih berkriteria seksama dan cermat. LOQ yang didapat sebesar 0,1647 mg/L. Data LOD dan LOQ dapat dihitung melalui persamaan regresi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai  $b$  pada persamaan regresi  $y = bx + a$ . Simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ). Nilai batas deteksi dan kuantitasi yang diperoleh menunjukkan jumlah analit terkecil yang mampu terukur oleh alat. Apabila konsentrasi amonia dalam analit lebih besar dari LOD maka sinyal tersebut merupakan sinyal alat terhadap analit dan dapat dipercaya. Namun bila lebih kecil dari LOD maka sinyal yang diperoleh sepenuhnya noise dan tidak dapat dipercaya. Nilai LOQ yang diperoleh menunjukkan konsentrasi analit terendah yang dapat terkuantitasi. Juga menentukan batasan rentang kerja yang perlu dicapai pada sebuah pengukuran. Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh secara teoritis harus dikonfirmasi terlebih dahulu dengan cara mengukur standar amonia konsentrasi sesuai dengan LOD dan LOQ yang diperoleh melalui perhitungan. Larutan tersebut dibuat sebanyak 9 kali, dipreparasi dan diukur pada alat. Diperoleh hasil pembacaan konsentrasi dengan hasil

semuanya terbaca, sehingga hasil terkonfirmasi dapat diterima dan valid.

### Uji Akurasi

Akurasi ialah ukuran yang dapat menyatakan kemiripan atau kedekatan hasil pengukuran analit dengan kadar yang sesungguhnya. Akurasi dapat dinyatakan sebagai persen recovery. Persen recovery yang didapat tertuang pada Gambar 2. Terlihat bahwa persen recovery seluruh konsentrasi standar berada dalam rentangan 90 – 110%. Hal ini dinyatakan sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan dan hasil akurasi dinyatakan baik dan data dapat dinyatakan valid dan akurat.

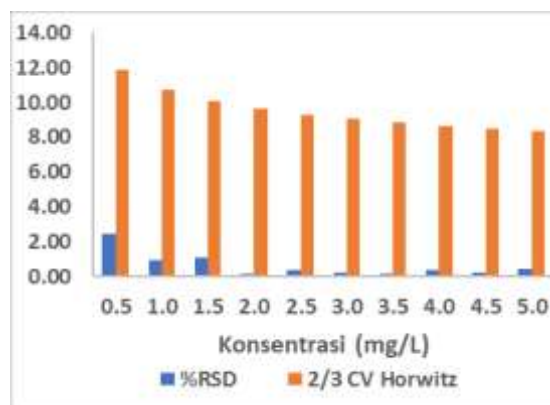


Gambar 2. Persen Recovery

### Uji Presisi

Uji presisi ialah ukuran yang mampu menunjukkan kedekatan antara hasil ukur individual terhadap nilai yang sebenarnya, yang diperoleh pada serangkaian pengulangan pengukuran dari ukuran yang sama. Uji Presisi digunakan sebagai cerminan terjadinya kesalahan acak pada suatu metode. Dalam laboratorium kesalahan ini sangat sulit untuk dihindari karena banyak berhubungan dengan lingkungan sekitar seperti prosedur, peralatan contoh yang diukur dan instrument ukur. Presisi dinyatakan dalam simpangan baku atau simpangan baku relatif. Persen RSD/simpangan baku relatif yang didapat harus < dari 2/3 CV Horwitz. CV (Koefisien Variasi) Horwitz merupakan sebuah nilai yang diberguna untuk mengukur keakuratan sebuah metode analisis. Hasil perbandingan persen RSD

dan 2/3 CV Horwitz ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Persen RSD dan Nilai 2/3 CV Horwitz

Pada Gambar 3. dapat dilihat bahwa persen RSD yang diperoleh pada penelitian ini sudah masuk dalam syarat keberterimaan uji presisi yakni < dari 2/3 CV Horwitz, maka data dinyatakan valid dan presisi. Dengan perhitungan yang presisi maka hasil pengukuran akan memiliki keakuratan.

## 4 KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat pada penelitian ini yakni:  $r = 0,9999$ ; persen recovery yakni 90 - 110% dan masuk dalam rentang yang ditetapkan; persen RSD < nilai 2/3 CV Horwitz, LOD 0,0494 mg/L, LOQ 0,1647 mg/L dan telah terkonfirmasi. Hasil yang didapatkan telah sesuai persyaratan, maka itu larutan standar amonia dari senyawa amonium klorida ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) dapat digunakan dan sudah valid sebagai standar dalam metode uji amonia di Laboratorium Analitik.

## 5 UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih banyak penulis haturkan pada LPPM UNUD yang telah memberikan hibah Pranata Laboratorium dari dana DIPA PNBPU Universitas Udayana TA-2024, sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Nomor : B/255.455/UN14.4.A/PT.01.03/2024, tanggal 17 April 2024.

## 6 REFERENSI

- [1] Effendi, H., 2003, *Telaah Kualitas Air*, Yogyakarta: Kanisius, Hal. 11, 152-156.
- [2] Yudo, S., 2010, Kondisi Kualitas Air Sungai Ciliwung di Wilayah DKI Jakarta ditinjau dari Parameter Organik, Amonia, Fosfat, Deterjen dan Bakteri Coli, *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 6, 34 – 42.
- [3] Niu, J., I. Kasuga, F. Kurisu, and H. Furumai, 2018, Effects of backwashing on granular activated carbon with ammonium removal potential in a full-scale drinking water purification plant, *Water*, 10(12), 1830, doi: 10.3390/w10121830. dan Subari, F., S. R. S. Abdullah, H. A. Hasan, and N. A. Rahman, 2018, Biological removal of ammonia by naturally grown bacteria in sand biofilter, *Malays J Anal Sci*, 22(2), 346–352, doi: 10.17576/mjas-2018-2202-22.
- [4] Badan Standarisasi Nasional, 1991, SNI 06-2479-1991. *Metode Pemeriksaan NH<sub>3</sub>-N*, Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [5] Harmita, Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Pharmaceutival Sciences & Research*, 1(3), 117–135, doi: 10.7454/psr.v1i3.3375.
- [6] Lab Mania, 2019, *Modul Workshop Validasi dan Verifikasi Metode*, Bekasi: Lab Mania.
- [7] Husin, Y. A., 1988, *Penuntun Analisis Sifat Fisik – Kimia Air*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [8] Brigden, K. and Stringer, R., 2000, *Ammonia and Urea Production : Incidents of Ammonia Release From The Profertil Urea and Ammonia Facility, Bahia Blanca, Argentina*, UK: Greenpeace Research Laboratories, Departement of Biological Science University of Exeter.
- [9] Pemerintah Republik Indonesia, 2001, *Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*, Jakarta : Presiden Republik Indonesia.
- [10] Makarovsky, I., Markel, T., Dushnitsky, A., 2008, Ammonia-When Something Smells Wrong, *IMAJ*, 10, 537-543.
- [11] Basset J. dan Mendham, 1994, *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*, Jakarta: Buku kedokteran EGC.