

VALIDASI METODE UJI NITRIT MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS 2600

Ni Nyoman Trisnawati*, Ni Putu Ayu Krismayanti, Putu Primantari Vikana Suari
Laboratorium Analitik, Universitas Udayana, Badung, Bali, Indonesia, 80361
*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 mahasiswa maupun dosen, dan melayani masyarakat untuk uji sampel dalam bidang kimia dan fisika. Parameter yang sering diuji oleh mahasiswa, dosen, maupun masyarakat adalah Nitrit (NO_2), yang biasanya terkandung dalam air dan daging olahan. Metode uji Nitrit dilakukan dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis 2600 dengan larutan standar Nitrit yang dibuat dari senyawa Natrium Nitrit (NaNO_2). Larutan standar ini belum bersertifikat (CRM), sehingga validasi standar perlu dilakukan untuk membuktikan bahwa larutan standar tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam metode uji, dan data yang diperoleh dapat dipercaya serta akurat. Penelitian ini bertujuan untuk memastikan bahwa metode uji Nitrit menggunakan Spektrofotometer UV-Vis 2600 sudah valid. Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan larutan standar Nitrit yang telah tervalidasi. Validasi metode yang digunakan meliputi uji linieritas, LOD, LOQ, akurasi, dan presisi. Hasil yang diperoleh adalah: nilai r sebesar 0,9995 yang menyatakan linier; nilai LOD dan LOQ adalah 0,0026 mg/L dan 0,0088 mg/L serta sudah terkonfirmasi, hasil uji akurasi (%*Recovery*) sudah masuk dalam rentang yang ditetapkan yakni 90-110%; dan hasil uji presisi sudah memiliki nilai %RSD < 2/3 CV Horwitz. Berdasarkan hasil penelitian yang sudah memenuhi persyaratan, dapat dinyatakan bahwa larutan standar Nitrit dari senyawa Natrium Nitrit (NaNO_2) sudah valid digunakan dalam metode uji Nitrit.

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

ABSTRACT: One of the laboratories that work follows the three responsibilities of Higher Education at Udayana University is the Analytical Laboratory. This laboratory provides facilities in terms of practicum and field work practice to students, assists student and lecturer research, and serves clients outside Udayana University in the area of chemical and physical analysis. The parameter that is often tested by students, lecturers, and other clients is Nitrite (NO_2), which is usually contained in water and processed meat. The nitrite test method was carried out using a Spectrophotometer UV-Vis 2600 instrument with a standard Nitrite solution made from the compound Sodium Nitrite (NaNO_2). The standard solution has not been certified (CRM), so standard validation needs to be done to prove that the standard solution meets the requirements for use in the test method, and the data obtained is reliable and accurate. This research aims to ensure that the Nitrite test method using the Spectrophotometer UV-Vis 2600 is valid. The benefit of this research is to obtain a validated Nitrite standard solution. The method validation used includes linearity, LOD, LOQ, accuracy, and precision tests. The results obtained were: r value was 0,9995 which states linear; the value of LOD and LOQ were 0,0026 mg/L and 0,0088 mg/L respectively and they were already confirmed; result of accuracy (%*Recovery*) was in the range of 90-110%; and result of precision test was in %RSD < 2/3 CV Hortwitz. Based on the research results that have fulfilled the requirements, it can be stated that the standard solution of Nitrite from the compound Sodium Nitrite (NaNO_2) is valid for use in the Nitrite test method.

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

1 PENDAHULUAN

Laboratorium Analitik adalah laboratorium pendidikan yang berfungsi sebagai penunjang Tri Dharma Perguruan Tinggi, khususnya bidang penelitian baik penelitian mahasiswa, dosen maupun melayani masyarakat dalam uji kimia dan fisika. Pelayanan yang diberikan harus secara efektif dan efisien, dengan data hasil uji yang akurat dan dipercaya demi mencapai kepuasan pelanggan, sehingga diperlukan metode uji yang valid dan SDM yang kompeten.

Salah satu parameter uji yang dikerjakan di Laboratorium Analitik adalah uji Nitrit dengan alat Spektrofotometer UV-Vis 2600. Nitrit merupakan salah satu jenis bahan tambahan pangan (BTP) yang penting, terutama dalam pengolahan produk daging olahan. Nitrit banyak digunakan sebagai pengawet pada berbagai jenis daging olahan seperti sosis, kornet, nugget dan lain-lain. Nitrit bersama dengan Natrium Klorida mampu menghambat produksi neurotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* yang mampu mencegah keracunan dan pembusukan, sehingga dapat meningkatkan umur simpan daging olahan [1]. Penggunaan bahan ini menjadi semakin luas karena manfaat Nitrit dalam pengolahan daging selain sebagai pembentuk warna dan bahan pengawet antimikroba, juga berfungsi sebagai pemberi aroma dan cita rasa [2]. Kandungan Nitrit juga dapat ditemukan pada sumber air minum yang berasal dari air tanah sebagai hasil dari reduksi nitrat oleh garam besi [3], namun bila dikonsumsi dan digunakan dalam kehidupan sehari-hari dapat membahayakan kesehatan. Penggunaan Nitrit juga dapat memberikan dampak negatif karena memicu pembentukan senyawa Nitrosamin yang bersifat teratogenik, mutagenik bahkan karsinogenik, melalui reaksi dengan amina

sekunder atau tersier yang ada di dalam tubuh [1].

Pengujian kandungan Nitrit dapat dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis 2600 dengan larutan standar Nitrit yang berasal dari senyawa NaNO_2 . Larutan standar ini belum bersertifikat (CRM) sehingga perlu dilakukan validasi larutan standar. Validasi larutan standar dilakukan untuk membuktikan bahwa larutan standar yang digunakan dalam suatu penelitian telah memenuhi persyaratan SNI, sehingga memberikan hasil yang akurat dan dapat dipercaya [4]. Suatu laboratorium diharuskan menggunakan metode pengukuran yang valid sesuai dengan sistem manajemen mutu standar Indonesia (SNI-17025 : 2017). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan validasi larutan standar Nitrit.

2 PERCOBAAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan kimia yang diperlukan adalah NaNO_2 , sulfanilamida, N-(1-naphthyl)-ethylene diamine dihydrochloride (NED dihidroklorida), asam klorida, H_2SO_4 dan akuades. Peralatan yang digunakan antara lain, gelas beaker, neraca analitik, pipet volume, pipet ukur, labu ukur, pipet tetes, batang pengaduk, *ball filler*, spatula, botol, tabung reaksi, *waterbath*, kuvet, dan Spektrofotometer UV-Vis 2600 *Shimadzu*.

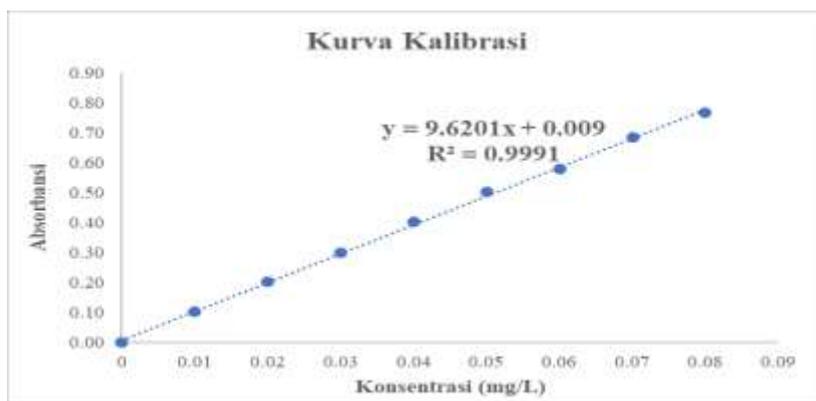
2.2 Metode

Larutan Induk Nitrit 1000 mg/L

Dibuat dengan menimbang teliti serbuk NaNO_2 sebanyak 4,9280 gram, dan dilarutkan dengan akuades bebas nitrit dalam labu ukur 1000 mL.

Larutan Standar Nitrit

Larutan induk Nitrit 1000 mg/L diencerkan menjadi 100, 10, 1, dan 0,1 mg/L.



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar Nitrit

Variasi larutan standar dibuat dengan mengencerkan larutan Nitrit 0,1 mg/L menjadi konsentrasi 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; dan 0,08 mg/L. Larutan standar dibuat sebanyak 9 kali untuk tiap konsentrasi.

Preparasi Larutan Standar Nitrit

Masing-masing larutan standar dipipet sebanyak 10 mL, lalu ditambahkan 0,5 mL larutan sulfanilamida, dikocok dan dibiarkan selama 2 hingga 8 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan NED dihidroklorida, dikocok dan dibiarkan selama 10 menit. Diberlakukan hal yang sama untuk 10 mL akuades sebagai Blanko.

Pengujian Larutan Standar Nitrit

Blanko dan larutan standar dibaca segera pada alat Spektrofotometer UV-Vis 2600 (pengukuran tidak boleh dilakukan lebih dari 2 jam) pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Persamaan regresi linier masing-masing standar selanjutnya ditentukan dan data yang diperoleh digunakan untuk menentukan uji validasi metode.

Analisis Data

Sebelum menghitung presisi, akurasi, LOD, LOQ, dan linieritas, data yang diperoleh akan diolah melalui proses seleksi data, dan yang memenuhi syarat dapat diolah lebih lanjut.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Data

Bertujuan untuk mengukur jarak relatif antara nilai yang dicurigai mempunyai potensi yang menyimpang terhadap nilai rata-rata kumpulan data.

Linieritas

Linieritas ditentukan untuk mengetahui kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh hasil yang sesuai terhadap konsentrasi analit dalam sampel [4]. Pengukuran ini bertujuan untuk memperoleh persamaan regresi dari kurva kalibrasi yang dibuat dari data pengukuran absorbansi larutan standar Nitrit, dimana uji linieritas dinyatakan sebagai koefisien korelasi (r) [4]. Kurva kalibrasi hasil pengukuran dapat dilihat pada Gambar 1.

Sesuai Gambar 1. diketahui persamaan regresi adalah $y = 9,6201x + 0,009$ dengan nilai regresi $R^2 = 0,9991$. Nilai r adalah akar R^2 sehingga diperoleh $r = 0,9995$. Hasil ini menyatakan bahwa terdapat korelasi antara absorbansi dan konsentrasi sehingga data linieritas sudah valid, karena persyaratan nilai koefisien korelasi (r) yakni harus lebih besar dari 0,995.

LOD dan LOQ

Batas deteksi (LOD) merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan blanko.

Tabel 1. Hasil % *Recovery* pada Uji Akurasi

Konsentrasi Larutan Standar (mg/L)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08
% <i>Recovery</i>	98,06	100,96	100,83	102,19	102,65	98,92	100,47	98,52

Tabel 2. Hasil %RSD dan 2/3 CV Horwitz pada Uji Presisi

Konsentrasi Larutan Standar (mg/L)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08
%RSD	2,39	0,26	0,93	0,96	0,30	0,43	0,94	0,20
2/3 CV Horwitz	21,40	19,19	18,06	17,26	16,68	16,32	15,91	15,64

Batas kuantitasi (LOQ) adalah parameter pada analisis renik yang diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama [4]. LOD dan LOQ dihitung secara statistik melalui persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = bx + a$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x) [4].

Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh nilai LOD sebesar 0,0026 mg/L. Nilai ini menunjukkan jumlah analit yang masih dapat terukur oleh alat. Apabila konsentrasi analit dibawah nilai LOD, maka sinyal yang ditangkap oleh alat tidak dapat dipercaya karena sepenuhnya adalah noise. Sementara itu, nilai LOQ yang diperoleh sebesar 0,0088 mg/L, dimana menunjukkan konsentrasi analit terendah yang terkuantitasi. Nilai LOQ menentukan batas rentang kerja yang harus dicapai dalam suatu pengukuran. LOD dan LOQ teoritis yang diperoleh melalui perhitungan selanjutnya dievaluasi dengan mengukur larutan standar Nitrit konsentrasi 0,0026 mg/L dan 0,0088 mg/L yang dibuat masing-masing sebanyak 7 kali. Hasil yang diperoleh adalah tidak ada hasil yang tak terbaca, sehingga LOD dan LOQ teoritis terkonfirmasi valid dan dapat diterima.

Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan [4]. Hasil akurasi dinyatakan baik apabila diperoleh persen *recovery* dalam rentang 90-110%. Hasil uji akurasi pada penelitian ini sudah masuk dalam rentang tersebut sehingga data yang diperoleh dapat dinyatakan akurat. Hasil uji akurasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual [4]. Presisi dapat dikatakan sebagai ukuran kedekatan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran ulang dari ukuran yang sama. Uji presisi dapat digunakan untuk mencerminkan kesalahan acak yang terjadi pada suatu metode. Dalam laboratorium, kesalahan acak sangat sulit untuk dihindari karena banyak berhubungan dengan peralatan pengukuran, instrumen ukur, prosedur, dan lingkungan sekitar. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variansi). Hasil uji presisi yang baik adalah apabila %RSD masuk dalam batas kriteria keberterimaan yaitu < 2/3 CV Horwitz [5]. Hasil uji presisi dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2. diketahui bahwa

%RSD sudah memiliki nilai $< 2/3$ CV Horwitz, sehingga data memenuhi kriteria keberterimaan dan dapat dinyatakan presisi.

4 KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini: nilai r sebesar 0,9995, nilai LOD dan LOQ sebesar 0,0026 mg/L dan 0,0088 mg/L, %Recovery masuk dalam rentang 90-110%, dan %RSD $< 2/3$ CV Horwitz. Hasil yang diperoleh sudah memenuhi persyaratan validasi, sehingga dapat dinyatakan bahwa larutan standar Nitrit dari senyawa Natrium Nitrit (NaNO_2) sudah valid digunakan dalam metode uji, dan data yang diperoleh dinyatakan akurat, presisi, dapat dipercaya dan dapat dipertanggungjawabkan.

5 UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada LPPM UNUD yang telah memberikan hibah Pranata Laboratorium dari dana DIPA PNBPU Universitas Udayana TA-2022, sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Nomor :

B/78.853/UN14.4.A/PT.01.03/2022,
Tanggal 21 April 2022.

6 REFERENSI

- [1] Habibah, N., Dhyanaputri, I.G.A.S., Karta, I. W., Dewi, N.N.A. Analisis Kuantitatif Kadar Nitrit dalam Produk Daging Olahan di Wilayah Denpasar Dengan Metode Griess Secara Spektrofotometri. *International Journal of Natural Sciences and Engineering*, 2018, 1-9.
- [2] Cahyadi, W. Analisis & Aspek Kesehatan: Bahan Tambahan Pangan. Cetakan Kedua. Edisi Kedua. PT Bumi Aksara, 2009, 5-7.
- [3] Chandra, B. Ilmu Kedokteran Pencegahan & Komunitas. EGC, 2009.
- [4] Harmita, Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Pharmaceutival Sciences & Research*, 2004, 1(3), 117-135.
- [5] Aradea, A. Your Reliable Partner for a Accredited Lab. PT. Merck Tbk, 2014.