

PENENTUAN KADAR NITRIT PADA KANGKUNG MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE

Kuntari¹, Popi Yuliana², Thorikul Huda³

^{1,2,3}Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia

Email : kuntari.D3AK@uii.ac.id, popyyuliana0502@gmail.com

Abstract

The method of determining the nitrite content of water spinach has been conducted using UV-Visible spectrophotometry. The purpose of this research is to determine nitrite level in water spinach and to test linearity, precision, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for uv-visible spectrophotometry. Based on the linearity test, the equation of the line $y = 1.076x + 0.0201$ is obtained with a coefficient of determination (R^2) of 0.9995. In determining precision, the value of nitrite level is 0,0740 mg/Kg with % RPD value is 16.71%. The LOD value of 0,0485 mg/L NaNO_2 and LOQ value of 0,1617 mg/L NaNO_2 . Based on these results, improvements need to be made so that the sample concentration is above the LOD so that the nitrite level can be measured accurately and precise.

Keywords: method validation, water spinach, nitrite, UV-Visible spectrophotometry.

1. PENDAHULUAN

Nitrit merupakan produk dari oksidasi nitrogen oleh aktifitas mikroba pada tanaman, tanah, dan air. Sumber utama nitrit (NO_2) secara umum adalah makanan, terutama sayuran, dan air minum. Jumlah asupan yang diizinkan *Acceptable Daily Intake* (ADI) oleh *Food and Agriculture Organization* (FAO) untuk berat badan 60 kg adalah 8 mg nitrit. Mengonsumsi sayur memang sangat dianjurkan, akan tetapi mengingat kandungan nitrit yang sangat tinggi dalam sayuran maka perlu untuk dipertimbangkan potensi pembentukan nitrosamine dari senyawa nitrit (Silalahi, 2005).

Beberapa sayuran memiliki kandungan nitrit yang tinggi. Tingginya nitrit dalam sayuran dapat dipengaruhi oleh kandungan dan bentuk nitrogen dalam tanah, kondisi tanah, kurangnya aliran cahaya, penggunaan herbisida dan pupuk (Nerdi dan Putra, 2018). Salah satu sayuran yang memiliki kadar nitrit yang tinggi adalah kangkung.

Kangkung merupakan sayuran yang cukup digemari oleh masyarakat luas karena selain memiliki harga yang relatif murah, sayur kangkung juga dapat dengan mudah

ditemukan baik di pasar tradisional maupun supermarket. Selain memiliki rasa yang lezat kangkung juga memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi terutama vitamin A, vitamin C, zat besi, kalsium, potassium, dan fosfor. Karena berbagai kandungan tersebut kangkung memiliki sifat sebagai anti racun, anti radang, sedatif, menghilangkan ketombe dan wasir berdarah (Suryaningsih dkk, 2018), meskipun demikian kangkung juga memiliki senyawa yang berdampak negatif, salah satunya adalah nitrit.

Nitrit dapat menghalangi kemampuan darah untuk membawa oksigen. Nitrit akan mengubah haemoglobin menjadi methaemoglobin atau protein yang tidak dapat membawa oksigen (Romsiah dan Meidalena, 2017). Oleh karena itu, penentuan kadar nitrit dalam kangkung perlu dilakukan untuk mengetahui batasan konsumsi kangkung pada manusia.

Spektrofotometri merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam penentuan kadar nitrit dalam suatu sampel. Salah satu metode spektrometri penentuan nitrit adalah metode Griess. Prinsip metode Griess berdasarkan pada reaksi diazotasi dari suatu amina aromatik dengan nitrit dalam suasana asam, yang diikuti dengan reaksi kopling

sehingga menghasilkan senyawa azo yang berwarna merah keunguan. Selanjutnya senyawa azo yang terbentuk diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 500-600, sehingga kadar nitrit dapat ditentukan (Habibah dkk, 2018). Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan penentuan kadar nitrit pada kangkung secara spektrometri uv-vis.

2. METODE PENELITIAN

Penentuan konsentrasi nitrit menggunakan metode Griess. Sampel ditambahkan pereaksi asam sulfanilat sebanyak 1 mL. Larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan larutan *N*-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride sebanyak 1 mL. Larutan dihomogenkan dan dibiarkan Kembali selama 10 menit. Larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang optimum.

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah spektrofotometer UV-Vis (UH5300 UV/VIS spectrophotometer), neraca analitik, kompor listrik, erlenmeyer, gelas beaker, labu ukur, gelas ukur, pipet ukur, corong gelas, pipet tetes, pengaduk kaca, saptula, kaca arloji, pro pipet, dan pisau.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah natrium nitrit (NaNO_2), asam sulfanilat ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$), asam klorida (HCl) p.a, karbon aktif, akuades, akuabides sayur kangkung, kertas saring whatman dan kertas seka dan *N*-(1-Naphthyl)ethylene-diamine dihydrochloride.

Persiapan Sampel

Sayur kangkung dicuci terlebih dahulu, kemudian dihaluskan dengan cara diiris. Sayur kangkung yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 10 gram dengan menggunakan gelas beaker 250 mL. Kemudian sebanyak 0,5 serbuk karbon aktif dan 100 mL akuabides ditambahkan. Tujuan ditambahkan serbuk karbon aktif adalah untuk menghilangkan zat hijau daun (klorofil) pada saat pengujian

sampel dengan spektrofotometri uv-vis. Sampel direbus selama 10 menit menggunakan kompor listrik. Air rebusan sayur kangkung didinginkan sampai suhu kamar dan disaring menggunakan kertas saring whatman. Air rebusan yang telah disaring ke dalam labu ukur 50 mL.

Uji linearitas

Uji linieritas dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari beberapa seri larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Penentuan linieritas pada penelitian ini dilakukan dengan cara menganalisis serangkaian konsentrasi larutan standar nitrit yang telah dibuat dari larutan induk nitrit intermediet sebesar 10 mg/L dengan variasi konsentrasi 0,1 mg/L; 0,2 mg/L; 0,4 mg/L; 0,6 mg/L dan 0,8 mg/L NaNO_2 .

Limit of detection dan limit of quantification

Limit of detection merupakan konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko. *Limit of quantification* merupakan konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). *Limit of detection* dan *limit of quantification* dapat ditentukan melalui persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi. *Limit of detection* dan *limit of quantification* ditentukan dengan menggunakan persamaan (1) dan (2):

$$LOD = 3 x \frac{Sy/x}{Slope} \quad (1)$$

$$LOQ = 10 x \frac{Sy/x}{slope} \quad (2)$$

Di mana Sy/x dihitung dengan menggunakan persamaan (3)

$$Sy/x = \sqrt{\frac{\sum (y-y_1)^2}{n-2}} \quad (3)$$

Presisi

Uji presisi (ketelitian) dinyatakan sebagai perbedaan persentase relatif (*relative percent*

different) atau % RPD. Nilai % RPD dihitung dengan menggunakan persamaan (4).

$$\% \text{ RPD} = \left| \frac{x_1 - x_2}{\frac{x_1 + x_2}{2}} \right| \times 100\% \quad (4)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Linearitas

Uji linearitas bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi analit dengan respon yang diberikan oleh instrumen. Berdasarkan data pada Tabel 1, absorbansi yang terukur berbanding lurus dengan konsentrasi larutan standar. Hal ini bersesuaian dengan hukum Lambert Beer dan menjadi dasar aspek kuantitatif spektrometri. Kuantifikasi konsentrasi analit pada sampel menggunakan persamaan regresi linear hasil *plotting* data konsentrasi analit sebagai nilai x dan absorbansi sebagai nilai y.

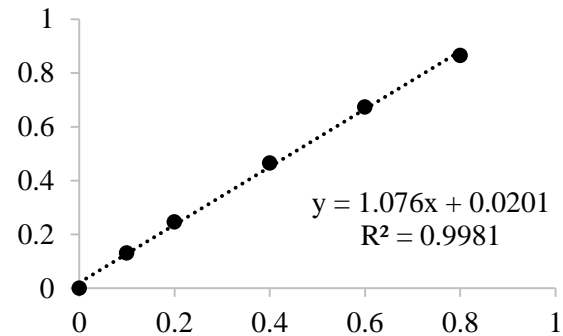
Tabel 1. Absorbansi larutan standar NaNO₂

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
1	0,0	0,000
2	0,1	0,131
3	0,2	0,246
4	0,4	0,465
5	0,6	0,673
6	0,8	0,865

Persamaan regresi yang diperoleh memiliki nilai slope sebesar 1,076 dan nilai intersep sebesar 0,0201. *Slope* merupakan ukuran sensitivitas dari suatu metode analisis, semakin besar nilai *slope* maka semakin sensitif suatu metode analisis. Intersep dapat dipertimbangkan sebagai sinyal blanko. Idealnya blanko tidak memberikan saat dilakukan pengukuran. Adanya respon blanko dapat disebabkan oleh adanya pengganggu dan kontaminasi saat pengukuran.

Kurva kalibrasi yang ditunjukkan pada Gambar 1. memberikan informasi bahwa uji

linearitas yang diperoleh memenuhi kriteria keberterimaan untuk penentuan linearitas, di mana nilai koefisien determinasi (R^2) lebih besar atau sama dengan 0,997 (Chan, 2004) dan berdasarkan SNI 06-6989.9-2004 linieritas kurva kalibrasi (r) harus lebih besar dari 0,99.



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar NaNO₂

Presisi

Penentuan nitrit pada sayur kangkung pada penelitian ini dilakukan secara duplo sehingga nilai presisi dinyatakan sebagai *Relative Percent Different* (RPD). Nilai RPD menurut SNI 06-6989.9-2004 dapat diterima ketika suatu metode memberikan nilai tidak lebih besar dari 5%.

Tabel 2. Data uji presisi

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)	Kadar NO ₂ ⁻ (mg/Kg)
1	0,042	0,0204	0,0678
2	0,046	0,0241	0,0802

Berdasarkan perhitungan data pada Tabel 2 diperoleh nilai kadar nitrit sebesar 0,0740 mg/Kg dengan % RPD sebesar 16,71% hal ini memberikan informasi bahwa uji presisi belum masuk syarat keberterimaan. Presisi yang kurang baik dapat disebabkan oleh sampel yang tidak homogen, terdapat kesalahan saat preparasi sampel atau pengukuran di bawah dari limit deteksi.

Limit of Detection dan Limit of Quantification

Limit of detection dan limit of quantification dalam penelitian ini ditentukan melalui kurva kalibrasi di mana x adalah konsentrasi NaNO_2 (mg/L), y_i adalah absorbansi terukur dan y adalah absorbansi hitung. Berdasarkan hasil perhitungan sebagaimana disajikan pada Tabel 3 diperoleh nilai LOD dan LOQ yaitu 0,0485 dan 0,1617 mg/L NaNO_2 .

Tabel 3. Perhitungan nilai LOD dan LOQ

x	y_i	y	(y- y_i)	(y- y_i) ²
0,0	0	0,0201	-0,0201	0,000404
0,1	0,131	0,1277	0,0033	1,09 x 10 ⁻⁵
0,2	0,246	0,2353	0,0107	0,000114
0,4	0,465	0,4505	0,0145	0,00021
0,6	0,673	0,6657	0,0073	5,33 x 10 ⁻⁵
0,8	0,865	0,8809	-0,0159	0,000253
			$\Sigma (y-y_i)^2$	0,001046
			Sy/x	0,016169
			LOD	0,048507
			LOQ	0,161690

Berdasarkan hasil perhitungan konsentrasi sampel pada uji presisi, nilai tersebut berada di bawah *limit of detection*. Hal ini memperkuat bukti bahwa pengukuran sampel di bawah limit deteksi memberikan tingkat ketelitian yang kurang baik. Hal ini dapat di atasi dengan cara melakukan pemekatan larutan sampel, menambah massa sampel yang digunakan pada tahapan preparasi atau menambah lama perebusan sampel sehingga konsentrasi sampel yang terukur berada di atas nilai limit deteksi. Lama perebusan sayur berdasarkan penelitian Romsiah dan Meidalena (2017) dapat menyebabkan peningkatan kadar nitrit yang terukur.

4. KESIMPULAN

Pada penentuan nitrit pada sampel kangkung diperoleh kadar rata-rata sebesar 0,0740 mg/Kg

dengan % RPD sebesar 16,71%. Penentuan dilakukan dengan menggunakan persamaan garis linear $y = 1,076x + 0,0201$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9981. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai % RPD tidak masuk dalam syarat keberterimaan karena konsentrasi sampel berada di bawah nilai LOQ.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Chan, C. C., Lam, H., Lee, Y. C. dan Zhang, X., 2004, *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, Canada : Wiley Interscience A John Willey and Sons, Inc., Publication.
- Habibah, N., Dhyana Putri, I. G. A. S., Karta, I. W. dan Dewi, N. N. A., 2018, Analisis Kuantitatif Kadar Nitrit dalam Produk Daging Olahan di Wilayah Denpasar dengan Metode Griess Secara Spektrofotometri, *International Journal of Natural Sciences and Engineering*, 2(1), 1-9.
- Nerdy N, Putra E. D. L. 2018, Spectrophotometric Method for Determination of Nitrite and Nitrate Levels in Broccoli and Cauliflower with Different Fertilization Treatment. *Orient J Chem*, 34(6), 2983-2991.
- Romsiah dan Meidalena, T., 2017, Validasi Metode dan Penetapan Kadar Nitrit (NO_2) Pada Hasil Rebusan Sayuran Hijau (Kangkung, Brokoli, Seledri) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal Penelitian Sains*, 19(1). 2983-2991.
- Silalahi, J., 2005, Masalah Nitrat dan Nitrit dalam Makanan, *Medika Jurnal Kedokteran Indonesia*, 31(5), 460-462.
- Suryaningsih, Said, I. dan Rahman, N., 2018, Analisis Kadar Kalsium (Ca) dan Besi (Fe) dalam Kangkung Air (*Ipomeae Aquatica Forsk*) dan Kangkung Darat (*Ipomeae Reptan Forsk*) Asal Palu, *Jurnal Akademika Kimia*, 7(3), 130-135