



KOVALEN: Jurnal Riset Kimia

<https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/kovalen>



Verifikasi Metode Pengujian Kadar Nitrit dalam Air Limbah Secara Spektrofotometri UV-Visibel

[Verification of a UV-Visible Spectrophotometry Method for Analysis of Nitrite Levels in Wastewater]

Imas Solihat¹, Ardina Purnama Tirta², Agung Pratama Ramdani², Achmad Nandang Roziafanto²✉

¹Program Studi Nanoteknologi Pangan, Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No.283, Tanah Baru, Bogor Utara, Kota Bogor, Jawa Barat 16154

²Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No.283, Tanah Baru, Bogor Utara, Kota Bogor, Jawa Barat 16154

Abstract. Wastewater is the residue from a business and or activity in the form of liquid. One of the chemical compounds that cause pollution is nitrite. The nitrite level in wastewater is a key parameter in determining water quality because of its toxicity. The standard method for nitrite analysis refers to SNI 06-6989.9-2004 using sulfanilic acid and N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride (NED) reagents. Linearity, instrument detection limit (LDI) and quantification detection limit (LOQ), precision, accuracy, and calculation of measurement uncertainty estimation are some of the verification parameters that were tested. The regression curve's results showed that the correlation value (r) = 0.9998, the instrument detection limit value of 0.0014 mg/L, the quantitation limit value of 0.0035 mg/L, the precision value (%SBR) of 1.30 percent, the accuracy value is in the range (90-100)% and the relative uncertainty of 5.88 %. The verification results suggested that the UV-Visible spectrophotometer-based nitrite test technique in wastewater had passed the acceptance requirements and may be utilized for routine laboratory analysis.

Keywords: nitrite, wastewater, UV-Visible Spectrophotometry, method verification

Abstrak. Air limbah adalah air bekas pakai dari sumber domestik maupun industri yang akan menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan. Salah satu senyawa kimia yang menyebabkan pencemaran yaitu nitrit. Kandungan nitrit di dalam air limbah menjadi parameter kunci dalam penentuan kualitas air karena nitrit bersifat toksik. Metode standar untuk analisis nitrit pada air limbah secara spektrofotometri mengacu pada SNI 06-6989.9-2004. Instrumentasi, lingkungan, bahan, alat dan analisis yang berbeda kondisi dengan metode standar dapat menyebabkan perbedaan unjuk kerja, kelayakan teknis dan keterbatasan dari metode standar. Oleh karena itu, metode standar perlu dilakukan verifikasi metode uji terlebih dahulu sebelum digunakan untuk analisis rutin di laboratorium. Parameter verifikasi yang dilakukan diantaranya: linieritas, limit deteksi instrument (LDI), limit kuantitasi (LOQ), presisi, akurasi dan perhitungan estimasi ketidakpastian pengukuran. Hasil verifikasi menunjukkan hasil kurva regresi dengan nilai korelasi (r)=0,9998, nilai limit deteksi instrument 0,0014 mg/L, nilai limit kuantitasi 0,0035 mg/L, nilai presisi (%SBR) = 1,30%, nilai akurasi berada pada rentang (90-100)% dan ketidakpastian relatif sebesar 5,88%. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa metode uji nitrit dalam air limbah secara spektrofotometri UV-Visible telah memenuhi syarat keberterimaan sehingga dapat digunakan untuk analisis rutin di laboratorium.

Kata kunci: nitrit, air limbah, spektrofotometri UV-Visibel, verifikasi metode

Diterima: 7 Januari 2022, Disetujui: 11 April 2022

Sitasi: Solihat, I., Tirta, A.P., Ramdani, A.P., dan Roziafanto, A.N. (2022). Verifikasi Metode Pengujian Kadar Nitrit dalam Air Limbah Secara Spektrofotometri UV-Visibel. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 8(1): 53-59.

✉ Corresponding author

E-mail: anandangr@aka.ac.id

<https://doi.org/10.22487/kovalen.2022.v8.i1.15756>



2477-5398/ © 2022 Solihat et al.
This is an open-access article under the CC BY-SA license.

LATAR BELAKANG

Air merupakan kebutuhan utama manusia dan jika kualitasnya tidak sesuai kebutuhan akan menyebabkan kehidupan manusia menjadi terganggu. Sumber pencemaran air dapat berupa gas, bahan-bahan terlarut dan partikulat yang terjadi melalui udara, daratan, pertanian, perkotaan rumah tangga dan industri (Flem *et al.*, 2018).

Air limbah berdasarkan PP No 2 tahun 2001 adalah cairan sisa hasil usaha atau kegiatan. Salah satu senyawa kimia yang menyebabkan pencemaran yaitu nitrit. Merujuk Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 5 Tahun 2014 tentang Baku Mutu Air Limbah bahwa syarat keberterimaan nitrit di dalam air limbah sebesar 1 mg/L. Nitrit dapat menyebabkan gangguan yang bersifat fatal karena dapat membentuk methemoglobin yang tidak dapat mengikat oksigen (Park *et al.*, 2013).

Metode spektrofotometri dapat digunakan untuk analisis kadar nitrit di dalam air limbah dengan menambahkan larutan asam sulfanilat dan NED. Metode standar pengujian nitrit tercantum dalam SNI 06-6989.9-2004 sehingga hanya diperlukan tahap verifikasi untuk menjamin mutu hasil uji dari metode yang digunakannya di laboratorium tersebut bersifat valid. Verifikasi adalah proses memeriksa, mengkonfirmasi dan memastikan data yang dihasilkan dapat dipercaya dan dapat dipertanggungjawabkan (Yanti, 2019).

Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi metode analisis nitrit dengan parameter verifikasi yaitu uji linieritas, limit deteksi instrumen, limit kuantitasi, presisi, akurasi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan yaitu: sampel air limbah, sulfanilamide (Merck KGaA), NED dihidroklorida (Merck KGaA), SRM NO₂-N 1000 mg/L CertiPUR (Merck KgaA) dan akuades. Alat yang digunakan yaitu: Spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu 2600) dan seperangkat peralatan gelas

Prosedur Penelitian

Tahap persiapan

1. Pembuatan larutan standar NO₂-N

Larutan standar NO₂-N 1000 mg/L dipipet menggunakan pipet sebanyak 5 mL ke dalam labu takar 5 mL. Larutan tersebut kemudian ditambahkan akuades sampai tanda tera dan dihomogenkan (100 mg/L). Larutan ini kemudian dipipet sebanyak 5 mL ke dalam labu takar 50 mL dan ditera dengan akuades (10 mg/L) selanjutnya diencerkan kembali dengan akuades sehingga konsentrasi larutan standar menjadi 0,5 mg/L.

2. Pembuatan deret standar NO₂-N

Deret standar NO₂-N dibuat variasi konsentrasi 0,01;0,02;0,05;0,10;0,20 mg/L di dalam labu takar 50 mL

3. Preparasi sampel air limbah

Sampel air limbah sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam gelas piala 100 mL dan ditambahkan 1 mL larutan sulfanilamida, dihomogenkan dan didiamkan 2-8 menit kemudian ditambahkan 1 mL larutan NED.

Tahap pengujian

Tahap pengujian terdiri dari parameter verifikasi meliputi uji linieritas, limit deteksi instrumen, limit kuantitasi, presisi, dan akurasi.

1. Linieritas

Deret standar NO₂-N dibuat dengan konsentrasi 0,01;0,02;0,05;0,10;0,20 mg/L kemudian ditambahkan 1 mL larutan sulfanilamida, dihomogenkan dan didiamkan 2-8 menit kemudian ditambahkan 1 mL larutan NED dan diukur serapannya pada panjang gelombang 543 nm.

2. Limit Deteksi Instrumen dan Limit Kuantitasi

Uji limit deteksi instrumen dan limit kuantitasi dilakukan dengan cara mengukur absorbansi sepuluh larutan blanko matriks (sampel yang tidak mengandung NO₂-N). Nilai pengujian blanko yang didapat secara teoritis dikonfirmasi untuk melihat responnya. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak sepuluh kali.

3. Presisi

Sampel air limbah dipipet sebanyak 50 mL ke gelas piala 250 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan sulfanilamida, dihomogenkan dan didiamkan 2-8 menit. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL larutan NED dihidroklorida. Larutan kemudian dihomogenkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 543 nm.

4. Akurasi

Uji akurasi dievaluasi dengan uji perolehan kembali (*recovery*) dengan metode *spiking* dengan penambahan larutan standar NO₂-N 0,1 mg/L.

Tahap pengolahan data

Parameter verifikasi dilakukan dengan menghitung kadar NO₂-N dalam sampel air limbah, koefisien korelasi dari parameter linieritas, limit deteksi instrumen teoritis dan limit kuantitasi teoritis, %RSD pada parameter

presisi, % *recovery* pada parameter akurasi, dan estimasi ketidakpastian.

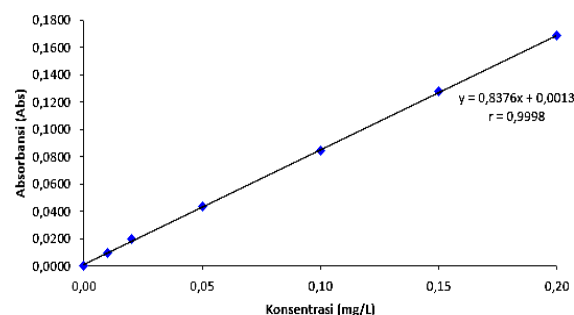
HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode pengujian kadar nitrit mengacu pada SNI 06-6989. 9-2004 dengan spektrofotometer UV-Visibel. Instrumen spektrofotometer UV-Visibel dapat digunakan dalam analisis kuantitatif dan kualitatif serta memiliki keunggulan dibandingkan instrumentasi yang lain seperti kemudahan dalam aplikasi, dapat mengukur konsentrasi larutan yang kecil dan tidak menghabiskan banyak waktu (Andulaa et al., 2017; Handayani et al., 2020; Jurwita et al., 2020; Porche, 2014). Prinsip pengujian nitrit berdasarkan pembentukan warna kemerah-merahan hasil reaksi antara nitrit dengan asam sulfanilat dan NED pada pH 2,0 sampai 5,2 (Strickland & Parsons, 1977).

Verifikasi Metode Analisis

Linieritas

Kurva linieritas merupakan parameter yang menentukan hubungan yang linier antara konsentrasi analit dengan absorbansi. Kurva linieritas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva hubungan antara konsentrasi NO₂-N dengan konsentrasi

Persamaan regresi linier yang diperoleh berdasarkan Gambar 1 sebesar $y = 0,8376x + 0,0013$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) = 0,9996 menunjukkan

adanya linieritas antara respon alat dengan konsentrasi analit dalam analisis

NO₂-N dalam rentang 0,00 mg/L hingga 0,20 mg/L. Nilai ini sesuai dengan batas keberterimaan ($R^2 > 0,990$). *Slope* yang dihasilkan sebesar 0,8376 yang menunjukkan sensitifitas metode pengujian.

Suatu metode pengujian yang baik akan menghasilkan nilai sensitivitas tinggi dengan ditandai oleh nilai *slope* yang semakin besar. *Slope* bernilai positif menunjukkan hubungan positif antara konsentrasi dengan absorbansi artinya nilai x dan nilai y berbanding lurus dimana apabila nilai x tinggi maka nilai y juga akan tinggi. Nilai *intercept* yang dihasilkan sebesar 0,0013 dan mendekati 0. Menurut Anwar (2010), nilai *intercept* yang makin kecil didapat semakin baik karena menunjukkan semakin kecil biasanya.

Limit Deteksi Instrumen (LDI) dan Limit Kuantitasi (LOQ)

Menurut Riyanto (2014), limit deteksi instrumen (LDI) merupakan konsentrasi terendah analit yang mampu terdeteksi dalam sampel yang dapat terdeteksi dan tidak harus terkuantitasi sedangkan limit kuantitasi (LOQ) adalah konsentrasi terendah analit yang dapat ditentukan dan harus terkuantitasi (presisi dan akurasi). Hasil uji LDI dan LOQ dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 nilai LDI dan LOQ memberikan respon positif sebesar 0,0014 mg/L dan 0,0035 mg/L. Larutan standar konsentrasi 0,0035 mg/L diukur sebanyak sepuluh kali ulangan untuk uji konfirmasi nilai LOQ. Hasil uji konfirmasi LOQ dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil uji konfirmasi memenuhi syarat keberterimaan dengan parameter presisi yaitu $\%SBR < 2/3$ CV Horwitz dan nilai $\% recovery$

konfirmasi limit kuantitasi yang diperoleh sebesar 93,33-109,20 %.

Tabel 1. Hasil uji LDI dan LOQ

Ulangan	Absorbansi (Abs)	Konsentrasi (mg/L)
1	0,0015	0,0003
2	0,0020	0,0009
3	0,0013	0,0000
4	0,0016	0,0004
5	0,0016	0,0004
6	0,0019	0,0008
7	0,0014	0,0002
8	0,0015	0,0003
9	0,0020	0,0009
10	0,0018	0,0006
Rata-Rata		0,0005
SB		0,0003
LDI		0,0014
LOQ		0,0035

Tabel 2. Hasil uji konfirmasi nilai LOQ

Ulangan	Absorbansi (Abs)	Konsentrasi (mg/L)	%Recovery
1	0,0042	0,0035	101,27
2	0,0040	0,0033	94,36
3	0,0044	0,0037	108,17
4	0,0037	0,0029	84,01
5	0,0038	0,0030	87,46
6	0,0036	0,0028	80,55
7	0,0039	0,0031	90,91
8	0,0037	0,0029	84,01
9	0,0036	0,0028	80,55
10	0,0036	0,0028	80,55
Rata-Rata			0,0031
SB			0,0003
%SBR			10,68
%CV Horwitz			38,20
2/3 %CV Horwitz			25,47
%Recovery			(93,33-109,20)%

Presisi

Kedekatan hasil pengujian individu dalam rangkaian pengukuran dalam sampel homogen serta dalam waktu yang berdekatan dan kondisi yang sama merupakan konsep dari presisi. Tabel 3 menunjukkan hasil uji presisi.

Hasil uji presisi memenuhi persyaratan dengan ketelitian yang sangat tinggi (%SBR 1,30%) dengan %SBR < 2/3 %CV Horwitz (Solihat et al., 2018). Menurut Sumardi (2002) jika hasil pengukuran diperoleh %SBR antara 2-5 % memiliki ketelitian pengukuran sedang, dan jika %SBR di atas 5% pengukuran tersebut memiliki tingkat ketelitian yang rendah. Hasil analisis yang bersifat presisi menandakan tidak terjadi kesalahan acak (*random error*) yang tidak dapat dikendalikan. Sumber dari kesalahan acak diantaranya ketidakstabilan instrumen, suhu dan keragaman teknik dan analisis yang berbeda (Faridah et al., 2020).

Tabel 3. Hasil uji presisi

Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)
1	0,0579	0,0676
2	0,0584	0,0682
3	0,0586	0,0684
4	0,0594	0,0694
5	0,0592	0,0692
6	0,0576	0,0673
7	0,0579	0,0676
8	0,0596	0,0696
9	0,0584	0,0682
10	0,0596	0,0696
Rata-Rata		0,0685
SB		0,0009
%SBR (%)		1,30
%CV Horwitz (%)		23,95
2/3 %CV Horwitz		15,97

Akurasi

Tingkat kedekatan hasil dari pengujian dengan nilai kadar analit yang sebenarnya menunjukkan akurasi dari suatu pengujian. Metode penambahan standar atau biasa disebut dengan *spike* dilakukan untuk uji akurasi dan hasilnya dinyatakan dalam bentuk persen perolehan kembali (%*recovery*) (NATA, 2012). Tabel 4 menunjukkan hasil uji akurasi.

Berdasarkan nilai %*recovery* yang diperoleh telah memenuhi syarat

keberterimaan yaitu 90-110%. Salah satu hal yang mempengaruhi %*recovery* yaitu kesalahan sistematis yang berasal dari preparasi yang bisa disebabkan karena proses pemipetan standar untuk spiking yang kurang kuantitatif, ataupun pada saat proses penyaringan yang kurang sempurna.

Tabel 4. Hasil uji akurasi

Ulangan	Konsentrasi sampel (mg/L)	Konsentrasi sampel + standar 0,1 ppm (mg/L)	Recovery (%)
1	0,0676	0,1666	98,97
2	0,0682	0,1709	102,67
3	0,0684	0,1685	100,05
4	0,0694	0,1690	99,57
5	0,0692	0,1673	98,14
6	0,0673	0,1678	100,52
7	0,0676	0,1703	102,67
8	0,0696	0,1675	97,90
9	0,0682	0,1697	101,48
10	0,0696	0,1698	100,17

Tabel 5. Ringkasan hasil uji verifikasi

Parameter uji	Hasil uji	Syarat keberterimaan	Keterangan
Linieritas	0,9998	0,9900	Memenuhi persyaratan
LDI	Positif	Respon positif	Memenuhi persyaratan
LOQ	10,68% (93,33-109,20%)	Respon positif, presisi, akurasi	Memenuhi persyaratan
Presisi	1,30%	%SBR < 2/3% CV Horwitz	Memenuhi persyaratan
Akurasi	97,90-102,67%	% Recovery 90,00 - 110,00%	Memenuhi persyaratan

Syarat keberterimaan pada parameter verifikasi yang telah diuji pada penetapan kadar NO₂-N dalam air limbah secara spektrofotometri sinar tampak telah dipenuhi sehingga laboratorium dapat menggunakan

metode ini untuk pengujian rutin. Tabel 5 menunjukkan ringkasan hasil uji verifikasi.

Estimasi ketidakpastian pengukuran

Estimasi ketidakpastian pengukuran dihitung untuk mengetahui rentang nilai benar berada. Estimasi ketidakpastian secara keseluruhan dilakukan dengan memisahkan masing-masing sumber ketidakpastian (Budiman *et al.*, 2009). Menurut Ellison *et al.* (2000), nilai ketidakpastian yang diharapkan tidak lebih 15% dari nilai rata-rata hasil pengujian yang ditentukan nilai estimasi ketidakpastiannya. Tabel 6 menunjukkan hasil ketidakpastian penetapan kadar NO₂-N dalam air limbah secara spektrofotometer sinar tampak.

Tabel 6. Hasil Ketidakpastian Penetapan Kadar NO₂-N dalam Air Limbah secara Spektrofotometer UV-Visibel

Sumber Ketidakpastian	Kurva Kalibrasi (mg/L)	Presisi Metode (mg/L)	Akurasi (%)
Nilai (X _i)	0,068	0,068	100,21
μ X _i	0,0012	0,0009	1,6820
(μ X _i / X _i)	0,0176	0,0130	0,0168
(μ X _i / X _i) ²	0,00031	0,00017	0,00028
Jumlah			0,0008
Nilai Ketidakpastian gabungan μCSx			0,0019
Nilai Ketidakpastian gabungan diperluas (U) yaitu 2 μCSx			0,004
Pelaporan			0,068 ± 0,004 mg/L

Berdasarkan hasil pengolahan data estimasi pada Tabel 6, didapatkan ketidakpastian penetapan kadar NO₂-N dalam sampel air limbah secara spektrofotometer sinar tampak pada kadar nitrit 0,068 mg/L diperoleh rentang nilai benar sebesar (0,068 ± 0,004) mg/L pada tingkat kepercayaan 95%. Sehingga diperoleh nilai ketidakpastian relatif sebesar 5,88%. Nilai ini telah memenuhi

syarat keberterimaan ketidakpastian pengukuran yang ditetapkan yaitu sebesar 15%. Komponen yang menjadi penyumbang terbesar nilai ketidakpastian pengukuran pada penetapan kadar NO₂-N dalam air limbah berasal dari ketidakpastian kurva kalibrasi.

KESIMPULAN

Syarat keberterimaan dari parameter verifikasi yang telah diuji pada penetapan kadar NO₂-N dalam air limbah secara spektrofotometri UV-Visibel (SNI 06-6989.9-2004) telah dipenuhi sehingga laboratorium dapat menggunakan metode ini untuk pengujian rutin.

DAFTAR PUSTAKA

- Andulaa, A. M., Ruslan, R., Ys, H., & Puspitasari, D. J. (2017). Studi Perbandingan Analisis Vitamin E Minyak Sawit Merah Tersaponifikasi Antara Metode Spektrofotometri Uv-vis Dan Kckt. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 50-57.
- Anwar, H. (2010). *Pedoman verifikasi metode pengujian parameter kualitas lingkungan* Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia, Jakarta.
- Budiman, H., Krismastuti, K., & Nuryatini, N. (2009). Estimation of measurement uncertainty in the determination of Fe content in powdered tonic food drink using graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(2), 247-253.
- Ellison, SLR., Rosslain, M., and Williams, A. (2000). *EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* (Second ed.). EURACHEM/CITAC Working Group and UK Departement of Trade and Industry as Part of The National of Measurement System Valid Analytical Measurement (VAM) Programme, UK.
- Fadiran, A., & Mamba, S. (2005). Analysis of nitrates and nitrites in some water and factory effluent samples from some cities in Swaziland. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 19(1), 35-44.

- Faridah, D. N., Solihat, I., & Yuliana, N. D. (2020). Validation of Mineral (Fe, Zn, and Cu) Analysis Methods in Carbohydrate, Protein and Fat-Rich Samples Using Microwave Digestion Method. *Indonesian Journal of Chemistry*, 20(2), 348-359.
- Flem, B., Reimann, C., Fabian, K., Birke, M., Filzmoser, P., & Banks, D. (2018). Graphical statistics to explore the natural and anthropogenic processes influencing the inorganic quality of drinking water, ground water and surface water. *Applied Geochemistry*, 88, 133–148. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.09.006>
- Handayani, T. W., Yusuf, Y., & Tandi, J. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 230-238.
- Jurwita, M., Nasir, M., & Haji, A. G. (2020). Analisis Kadar Vitamin C Bawang Putih dan Hitam dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 252-261.
- NATA. (2012). *Technical Note 17: Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods*; Issued: August 2004 Amended and reissued: December 2006, April 2009, March 2012, June 2012, October 2013, Australia.
- Park, J. W., Pikhova, B., Huang, P. L., Noguchi, C. T., & Schechter, A. N. (2013). Effect of blood nitrite and nitrate levels on murine platelet function. *PloS one*, 8(2) :e55699. doi: 10.1371/journal.pone.0055699.
- Porche, M. (2014). *Spectrophotometric Determination of Nitrite by Derivatization with Captopril*. Miami University, Miami.
- Riyanto. (2014). *Validasi & Verifikasi Metoda Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025*. Deepublish, Yogyakarta.
- Solihat, I., Faridah, D. N., & Yuliana, N. D. (2018). Validation method of Flame-AAS with microwave digestion for mineral analysis in carbohydrate-rich samples. *Molekul*, 13(2), 133-140.
- Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R. (1977). A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada, Canada.
- Sumardi. (2002). *Validasi Metode Pengujian*. Pusat Standarisasi Dan Akreditasi Sekretariat Jenderal Departemen Pertanian, Bandung.
- Yanti, I. (2019). Verification of analysis method of TBC (P-Tert Butylcathecol) in industrial waste from polimerization process. *IJCR*, 4(1), 09-16.