JURNAL PENELITIAN SAINS
Journal Home Page: http://ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/index

Verifikasi metode penentuan kadar nitrit secara spektrofotometri visibel berdasarkan SNI 06-6989.9-2004

YUNETA DWI YUNISARI DAN YUDHI UTOMO
Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

Kata kunci:
verifikasi,
nitrit,
spektrofotometri visibel

ABSTRAK: Nitrit (NO_2-N) merupakan senyawa yang beracun bagi ikan maupun mikroorganisme yang ada di dalam perairan. Penentuan kandungan nitrit dalam air sangat penting untuk menilai tingkat pencemaran air. Penentuan kadar nitrit juga merupakan salah satu judul percobaan wajib dalam kurikulum pembelajaran yakni pada praktikum kimia lingkungan. Selama ini pada praktikum percobaan penentuan kadar nitrit digunakan metode penentuan kadar nitrit menurut SNI 06-2484-1991. Sedangkan pada tanggal 31 Januari 2004, dalam rapat konsensus pemerintah disepakati bahwa metode SNI 06-2484-1991 direvisi menjadi metode SNI 06-6989.9-2004. Pengukuran kadar nitrit dengan metode ini belum digunakan dalam kegiatan praktikum pembelajaran, sehingga perlu dilakukan verifikasi metode untuk menguji kelayakan metode tersebut untuk diterapkan pada kegiatan praktikum kimia lingkungan. Sehingga disusunlah penelitian ini yang bertujuan untuk (1) mengetahui kelayakan metode penentuan kadar nitrit secara SNI 06-6989.9-2004, dan (2) mengetahui hasil parameter verifikasi dari metode penentuan kadar nitrit secara SNI 06-6989.9-2004**.** Parameter verifikasi yang diuji ialah: liniearitas, limit deteksi instrumen (LDI), limit kuantitasi (LOQ), presisi dan akurasi. Berdasarkan hasil verifikasi didapatkan hasil kurva regresi dengan nilai determinasi (r^2) = 0,9997, nilai limit deteksi instrumen 0,0020 mg/L, nilai limit kuantitasi 0,0043 mg/L, nilai presisi (%RSD) = 1,70%, nilai akurasi 100,78% (berada pada rentang 90 – 110%). Hasil verifikasi menunjukkan bahwa metode uji nitrit secara SNI 06-6989.9-2004 telah memenuhi syarat keberterimaan sehingga dapat digunakan untuk analisis kadar nitrit pada kegiatan pembelajaran praktikum di laboratorium.

Keywords:
verfication,
nitrite,
spectrophotometry visible

ABSTRACT: Nitrite (NO2-N) is a compound that is toxic to fish and microorganisms in water. Determination of nitrite content in water is very important to assess the level of water pollution. Determination of nitrite levels is also one of the mandatory experimental titles in the learning curriculum, namely in environmental chemistry practicums. So far, in the experimental practicum for determining nitrite levels, the nitrite level determination method according to SNI 06-2484-1991 has been used. Meanwhile, on January 31, 2004, in a government consensus meeting, it was agreed that the SNI 06-2484-1991 method was revised to the SNI 06-6989.9-2004 method with the title of nitrite (NO2-N) test method by spectrophotometry. Measurement of nitrite levels with this method has not been used in learning practicum activities, so it is necessary to verify the method to test the feasibility of the method for application in environmental chemistry practicum activities. So this research was compiled with the aim of (1) knowing the feasibility of the nitrite content determination method according to SNI 06-6989.9-2004, and (2) knowing the results of the verification parameters of the nitrite content determination method according to SNI 06-6989.9-2004. The verification parameters tested were: linearity, instrument detection limit (LDI), quantitation limit (LOQ), precision and accuracy. Based on the verification results, the regression curve results were obtained with a correlation value (r) = 0.9997, instrument detection limit value of 0.0020 mg/L, quantitation limit value of 0.0043 mg/L, precision value (%RSD) = 1.70%, accuracy value of 100.78% (in the range of 90 - 110%) The verification results show that the nitrite test method by visible spectrophotometry with the SNI 06-6989.9-2004 method has met the acceptance requirements so that it can be used for nitrite level analysis in practical learning activities in the laboratory.

1 PENDAHULUAN

Limbah yang dialirkan ke perairan dapat menimbukan berbagai masalah penyakit bagi manusia dan lingkungan [1] . Salah satu cara untuk dapat memantau kualitas air ialah dengan mengukur kadar nitrit dalam suatu cemaran air. Nitrit dapat berinteraksi dengan senyawa lain di dalam proses pencernaan sehingga membentuk nitrosamine karena sifatnya yang tidak stabil. Nitrosamine bersifat karsinogenik (meningkatkan resiko terjadinya kanker) [2]. Nitrit (NO_2-N) adalah senyawa yang sangat mudah larut di dalam air dan beracun bagi ikan maupun mikroorganisme yag ada di dalam perairan. Nitrit merupakan bentuk peralihan (*intermediate*) antara amonia dan nitrat (*nitrifikasi*) [3]. Namun di sisi lain nitrit juga berperan penting dalam studi klinis, makanan dan ilmu lingkungan [4] [5].

Penentuan kadar nitrit juga merupakan salah satu judul percobaan wajib dalam kurikulum pembelajaran yakni pada praktikum kimia lingkungan. Selama ini pada praktikum percobaan

*** Corresponding Author:** yudhi.utomo.fmipa@um.ac.id

https://doi.org/10.56064/jps.v27i1.1097
Naskah diusulkan: 3 November 2024; disetujui: 27 Februari 2025; diterbitkan: 30 April 2025
p-ISSN: 1410-7058 e-ISSN: 2597-7059 © 2025 JPS MIPA UNSRI

penentuan kadar nitrit digunakan metode penentuan kadar nitrit menurut SNI 06-2484-1991. Pada metode tersebut, nitrit akan bereaksi dengan pereaksi nitrit (asam sulfanilat + naftilamin) dalam suasana asam akan membentuk senyawa diazo yang berwarna merah ungu kemudian diukur dengan spektrofotometer [6]. Metode penentuan nitrit dapat dilakukan dengan banyak cara namun metode spektrofotometri merupakan metode yang paling sering digunakan karena lebih sederhana dan memiliki limit deteksi yang sangat baik [7]. Pada tanggal 31 Januari 2004, dalam konsensus pemerintah disepakati bahwa metode SNI 06-2484-1991 direvisi menjadi metode SNI 06-6989.9-2004 dengan judul cara uji nitrit (NO_2-N) secara spektrofotometri [8]. Pada metode ini digunakan pereaksi Greiss yakni dengan pereaksi sulfanilamida dan NED dihidroklorida. Metode ini sangat disarankan karena lebih mudah, murah dan layak untuk dilakukan dalam pengukuran kadar nitrit [9]. Pengukuran kadar nitrit dengan reagen Griess memiliki limit deteksi pada rentang konsentrasi 0,02 – 2 M [10]. Pengukuran kadar nitrit dengan metode ini belum digunakan dalam kegiatan praktikum pembelajaran, sehingga perlu dilakukan verifikasi metode untuk menguji kelayakan metode tersebut untuk diterapkan dalam penentuan kadar nitrit dalam air limbah pada kegiatan praktikum kimia lingkungan. Verifikasi perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi dan menegaskan bahwa metode tersebut sesuai dengan penggunaannya [1].

Penelitian mengenai validasi penentuan kadar nitrit beberapa telah dilaporkan. Metode validasi dengan metode SNI 06-6989.9-2004 pernah digunakan untuk menentukan kadar nitrit dalam rebusan sayur hijau dan disimpulkan bahwa metode tersebut valid untuk menentukan kadar nitrit dalam sayuran hijau [2]. Menurut penelitian berjudul verifikasi metode pengujian kadar nitrit dalam air limbah secara spektrofotometri UV-vis disimpulkan bahwa syarat keberterimaan dari parameter verifikasi yang telah diuji dengan metode SNI 06-6989.9-2004 telah terpenuhi [11].

Penelitian ini merupakan bagian dari Bidang Unggulan Topik Kimia Lingkungan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengkonfirmasi dan menegaskan metode tersebut sesuai dengan penggunaannya sehingga metode tersebut dapat diterapkan pada kegiatan praktikum di laboratorium.

2 METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan uji penentuan kadar nitrit dengan metode penentuan kadar nitrit secara SNI 06-6989.9-2004. Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini ialah Spektrofotometer Visibel Thermo Scientific Genesys 30, pipet ukur (1, 2, 5, dan 10 mL), labu takar 25, 50 dan 100 mL, pipet tetes, gelas beker 50 dan 100 mL.

Uji Linearitas

Larutan baku nitrit dibuat dengan konsentrasi 50 mg/L yang kemudian diencerkan menjadi 0,50 mg/L. Larutan tersebut dipipet kembali untuk membuat larutan kerja dengan variasi konsentrasi yakni 0,00; 0,01; 0,02; 0,05; 0,10; 0,15; dan 0,20 mg/L pada labu takar 50 mL [8]. Pada masing-masing larutan standar ditambahkan 1 mL larutan sulfanilamida, dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan NED dihidroklorida, dikocok dan didiamkan selama 10-15 menit. Pengukuran dilakukan pada waktu ke 15 menit karena warna kompleks azo akan paling stabil pada menit ke 15 [12]. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 543 nm menggunakan spektrofotometer visibel.

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

Penentuan LDI dan LOQ dilakukan dengan cara pengukuran absorbansi dari sepuluh blanko matriks yang bebas nitrit. Blanko berisi 1 mL larutan sulfanilmida, 1 mL larutan NED dihidroklorida dan diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas.

Penentuan Presisi Analisa Kadar Nitrit

Sebanyak 50 mL contoh uji ditambahkan 1 mL larutan sulfanilamida, dikocok dan didiamkan selam 5 menit. Kemudian dimasukkan 1 mL larutan NED dihidroklorida, dikocok dan didiamkan selama 15 menit segera dilakukan pengukuran. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 543nm. Analisa dilakukan sebanyak 8 kali pengulangan.

Penentuan Akurasi Analisa Kadar Nitrit

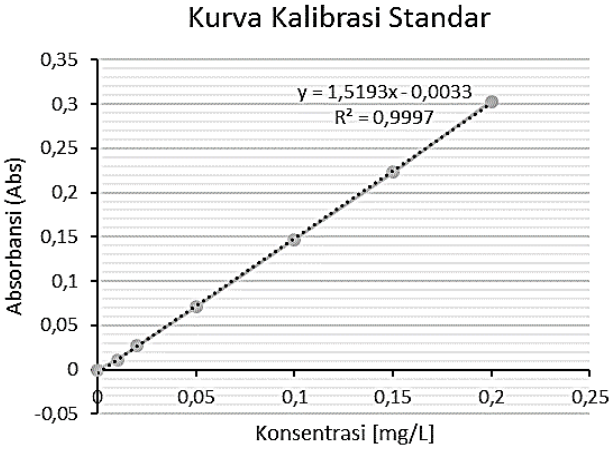
Uji Akurasi dilakukan dengan metode *spiking* dengan penambahan larutan standar NO_2-N 0,04 mg/L ke dalam sampel dengan pengulangan sebanyak 8 kali untuk menghitung perolehan kembali (%*recovery*).

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Linearitas

Kurva Liniearitas menunjukkan hubungan linier antara absorbansi dengan konsentrasi analit [11]. Kurva linearitas ditunjukkan pada Gambar 1. Nilai koefisien determinasi (r^2) > 0,995 menunjukkan

keakuratan dalam pembuatan dan pengukuran larutan standar. Pengujian ini menggunakan larutan standar pada rentang konsentrasi 0,00; 0,01; 0,02; 0,05; 0,10; 0,15; dan 0,20 mg/L. Kurva kalibrasi larutan standar mengikuti persamaan y = 1,5193x + 0,0033 dengan koefisien determinasi sebesar 0,9997 menunjukkan linearitas yang baik dan memenuhi syarat keberterimaan SNI 06.6989.9-2004.



Gambar 1. Kurva hubungan antara konsentrasi nitrit dengan absorbansi

Penentuan Limit Deteksi Instrumen dan Limit Kuantitasi

Limit deteksi instrumen (LDI) merupakan konsentrasi terkecil analit yang masih bisa dideteksi dalam sampel dan memberikan respon yang signifikan dibandingkan blanko sedangkan limit kuantitasi (LOQ) adalah konsentrasi terkecil analit yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama serta terkuantitasi [13].

Tabel 1. Hasil uji limit deteksi dan limit kuantitasi

Pengulangan	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)
1	0,004	0,0012
2	0,004	0,0012
3	0,003	0,0006
4	0,004	0,0012
5	0,004	0,0012
6	0,004	0,0012
7	0,003	0,0006
8	0,003	0,0006
9	0,003	0,0006
10	0,004	0,0012
Rerata		0,0010
SD		0,0003
LDI		0,0020
LOQ		0,0043

Berdasarkan Tabel 1 nilai LDI dan LOQ menunjukkan nilai sebesar 0,0020 mg/L dan 0,0043 mg/L. Pada pengukuran tersebut diketahui bahwa analisis blanko sebagai kontrol kontaminasi menunjukkan kadar nitrit pada blanko lebih kecil dari limit deteksi. Hal ini sesuai dengan syarat keberterimaan pada pengendalian mutu SNI-06-6989.9-2004.

Penentuan Akurasi Analisa Kadar Nitrit

Akurasi menunjukkan derajat kedekatan hasil pengujian analit dengan kadar analit yang sesungguhnya [2]. Dengan kata lain, akurasi dinyatakan sebagai %*recovery* (perolehan kembali) analit yang ditambahkan. Pada tabel 3 menunjukkan nilai %*recovery* yang didapatkan yakni 100,78% telah memenuhi syarat keberterimaan pada rentang 90-110% [14].

Penentuan Presisi Analisa Kadar Nitrit

Presisi diukur sebagai simpangan baku relatif (koefisien variasi) atau simpangan baku dan dapat dinyatakan sebagai *reproducibility* (ketertiruan) atau *repeatability* (keterulangan). Hasil analisis bersifat presisi dilakukan dengan melakukan minimal 6 kali pengulangan namun pada penelitian ini dilakukan 8 kali pengulangan. Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil uji presisi memenuhi syarat keberter-imaan ketelitian yang baik dengan nilai %RSD < 2% dan %RSD < 2/3 CVHorwitz [13].

Tabel 2. Hasil uji presisi analisa kadar nitrit dengan 8 kali pengulangan

Ulangan	Absorbansi	Kosentrasi sampel (mg/L)
1	0,114	0,0772
2	0,117	0,0792
3	0,114	0,0772
4	0,112	0,0759
5	0,116	0,0785
6	0,112	0,0759
7	0,114	0,0772
8	0,117	0,0792
Rerata		0,0775
SD		0,0013
%RSD		1,70
%CV Horwitz		23,51
2/3 %CV Horwitz		15,67

4 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil verifikasi yang telah diuji pada pengukuran kadar nitrit secara spektrofotometri visibel dengan metode SNI 06-6989.9-2004, didapatkan hasil kurva regresi dengan nilai determinasi (r^2) = 0,9997, nilai limit deteksi instrumen 0,0020 mg/L, nilai limit kuantitasi 0,0043 mg/L, nilai presisi (%RSD) = 1,70%, nilai akurasi yakni 100,78% (berada pada rentang 90 – 110%).

Hasil verifikasi menunjukkan bahwa metode uji nitrit secara SNI 06-6989.9-2004 telah memenuhi syarat keberterimaan sehingga dapat digunakan untuk analisis kadar nitrit pada kegiatan pembelajaran praktikum di laboratorium.

Tabel 3. Hasil uji akurasi analisa kadar nitrit dengan 8 kali pengulangan

Ulangan	Konsentrasi sampel (mg/L)	Kosentrasi sampel + standar 0,04 mg/L	% *Recovery*
1	0,0772	0,1193	105,31
2	0,0792	0,1193	100,37
3	0,0772	0,1161	97,08
4	0,0759	0,1161	100,37
5	0,0785	0,1174	97,08
6	0,0759	0,1154	98,73
7	0,0772	0,1193	105,31
8	0,0792	0,1200	102,02
Rerata		0,0775	100,78

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada lembaga kami Universitas Negeri Malang (UM) yang telah mendanai penelitian ini melalui program penelitian dana internal UM tahun 2024 dengan no kontrak 4.4.669/UN32.14.1/LT/2024. Selain itu kami sampaikan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat UM, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UM, dan Laboratorium Kimia UM yang telah memberikan kesempatan dan dukungan selama pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

[1] O. D. Pitalokasari, S. Fiqri, and D. Ayudia, 'Validasi Metode Pengujian Biochemical Oxygen Demand (BOD) Dalam Air Laut Secara Titrimetri Berdasarkan SNI 6989.72:2009', *Ecolab*, vol. 15, no. 1, pp. 63–75, 2021, doi: 10.20886/jklh.2021.15.1.63-75.

[2] R. dan Tria Meidalena Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang, 'Validasi Metode dan Penetapan Kadar Nitrit (NO2) pada Hasil Rebusan Sayuran Hijau (Kangkung, Brokoli, Seledri) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis', *J. Penelit. Sains*, vol. 19, 2017.

[3] A. C. Karlina, A. M. Supriatna, and D. V. Amalia, 'Analisis Kadar Nitrit (NO2–N) pada Sampel Air Permukaan dan Air Tanah di Wilayah Kabupaten Cilacap Menggunakan Metode Spektrofotometer Uv-Vis', vol. 7, 2022.

[4] T. M. G. Cardoso, P. T. Garcia, and W. K. T. Coltro, 'Colorimetric determination of nitrite in clinical, food and environmental samples using microfluidic devices stamped in paper platforms', *Anal. Methods*, vol. 7, no. 17, pp. 7311–7317, 2015, doi: 10.1039/C5AY00466G.

[5] X. Wang, E. Adams, and A. Van Schepdael, 'A fast and sensitive method for the determination of nitrite in human plasma by capillary electrophoresis with fluorescence detection', *Talanta*, vol. 97, pp. 142–144, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.talanta.2012.04.008.

[6] E. Emawati and T. Mustika, 'Analisis Kandungan NIitrat dan Nitrit Dalam Air Minum Isi Ulang dengan Pereaksi Gries GRIES Menggunakan Metode Spektrofotometri Sinar Tampak', vol. 4.

[7] N. Pourreza, M. R. Fat'hi, and A. Hatami, 'Indirect cloud point extraction and spectrophotometric determination of nitrite in water and meat products', *Microchem. J.*, vol. 104, pp. 22–25, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.microc.2012.03.026.

[8] SNI 6989, 'Air dan air limbah – Bagian 9 : Cara uji nitrit (NO 2 _ N) secara spektrofotometri', *Badan Stand. Nas. Indones.*, vol. 1, no. 2, pp. 1–16, 2004.

[9] Q.-H. Wang *et al.*, 'Methods for the detection and determination of nitrite and nitrate: A review', *Talanta*, vol. 165, pp. 709–720, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.talanta.2016.12.044.

[10] P. Singh, M. K. Singh, Y. R. Beg, and G. R. Nishad, 'A review on spectroscopic methods for determination of nitrite and nitrate in environmental samples', *Talanta*, vol. 191, pp. 364–381, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.talanta.2018.08.028.

[11] F. S. Budi and H. Havizul, 'Pengembangan Metode Penentuan Nitrit dan Nitrat dalam Daging Segar dan Produk Daging Olahan secara Spektrofotometri UV-Vis', *ILTEK J. Teknol.*, vol. 17, no. 02, pp. 120–129, Dec. 2022, doi: 10.47398/iltek.v17i02.21.

[12] I. Indawati, M. Z. Safirany, and N. R. Hidayati, 'Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Kandungan Nitrit dalam Kornet yag dijual di Pasar Kota Cirebon', *J. Pharmacopolium*, vol. 4, no. 1, Jun. 2021, doi: 10.36465/jop.v4i1.718.

[13] I. Solihat, A. P. Tirta, A. P. Ramdani, and A. Nandang Roziafanto, 'Verifikasi Metode Pengujian Kadar Nitrit dalam Air Limbah Secara Spektrofotometri UV-Visibel', *KOVALEN J. Ris. Kim.*, vol. 8, no. 1, pp. 53–59, 2022, doi: 10.22487/kovalen.2022.v8.i1.15756.

[14] Pusarpedal-KLH Kawasan Puspiptek Gedung 210 Jalan Raya Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan and A. Hadi, 'Penentuan Batas Deteksi Metode (Method Detection Level) dan Batas Kuantifikasi (Limit of Quantitation) Pengujian Sulfida dalam Air Limbah dengan Biru Metilen secara Spektrofotometri', *J. Ecolab*, vol. 4, no. 2, pp. 70–80, Dec. 2010, doi: 10.20886/jklh.2010.4.2.70-80.