

PENENTUAN BATAS DETEKSI (LOD) DAN BATAS KUANTITASI (LOQ) PADA PENGUKURAN FOSFAT ($\text{PO}_4\text{-P}$) DALAM AIR TAWAR DENGAN METODE ASAM ASKORBAT

Puji Purnama¹ dan Dyah Ika Kusumaningtyas²

¹Calon Teknisi Litkayasa pada Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumber Daya Ikan-Jatiluhur

²Teknisi Litkayasa Pelaksana Lanjutan pada Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumber Daya Ikan-Jatiluhur

Teregistrasi I tanggal: 29 Januari 2014; Diterima setelah perbaikan tanggal: 30 April 2014;

Disetujui terbit tanggal: 17 Juni 2014

PENDAHULUAN

Fosfat atau sering disebut gugus fosfat adalah sebuah ion poliatomik atau radikal terdiri dari satu atom fosforus dan empat oksigen (PO_4^{3-}) yang sangat penting bagi mahluk hidup (Anonim, 2013). Sumber fosfor di perairan berasal dari limbah industri, limbah domestik, aktivitas pertanian dan pertambangan batuan fosfat serta penggundulan hutan (Ruttenberg, 2004 dalam Rumhayati, 2010). Fosfor di perairan berada dalam bentuk senyawa fosfat, yang terdiri atas fosfat terlarut. Kelebihan fosfat di perairan menyebabkan peristiwa *blooming* alga yang merupakan indikator eutrofikasi perairan dengan akibatnya akan menurunkan konsentrasi oksigen di bawah permukaan perairan sehingga menyebabkan kematian biota air.

Penentuan fosfat dapat ditentukan dengan berbagai macam metode diantaranya metode *vanadomolibdofosforik*, *stannous chloride* (SnCl) dan asam askorbat. Metode asam askorbat ini digunakan dalam rangka kegiatan untuk memenuhi persyaratan akreditasi laboratorium pengujian pada Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumber Daya Ikan (BPPKSI). Metode tersebut mempunyai batas deteksi terkecil/ *Limit of detection* (LOD). Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit (zat aktif) dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Fungsi dari LOD merupakan parameter uji batas suatu metode dalam jumlah terkecil dalam analisis. Batas kuantitasi/ *Limit of Quantification* (LOQ) adalah kuantitas terkecil analit (zat aktif) dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama atau ditentukan dengan tingkat presisinya. Fungsi dari LOQ merupakan parameter pada analisis renik (kecil) (Riyadi, 2009).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan batas deteksi dan batas kuantitasi metode pengukuran fosfat dalam air tawar secara asam askorbat.

POKOK DAN BAHASAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2014 di Laboratorium Kimia Air, Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumber Daya Ikan (BPPKSI), Jatiluhur, Purwakarta, Jawa Barat. Metode pengukuran yang digunakan adalah SNI 06-6989.31-2005 (Air dan Air Limbah-Bagian 31 : Cara uji kadar fosfat dengan spektrofotometer secara asam askorbat).

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam pengukuran batas deteksi dan batas kuantitasi secara asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 1.

Metode Analisa

Prinsip metode penentuan fosfat secara asam askorbat adalah ammonium molibdat dan kalium antimonil tartrat bereaksi dengan fosfat membentuk kompleks antimonil fosfomolibdat dalam medium asam yang akan direduksi oleh asam askorbat menjadi kompleks biru-molibdenum (*molybdenum blue*) (Anonim, 2005)

Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis itu menggunakan instrumen atau tidak. Dalam metode asam askorbat, digunakan instrument spektrofotometer. Penentuan batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko tersebut.

Prosedur Kerja

- 1) Langkah-langkah pembuatan larutan induk, larutan baku, dan larutan kerja fosfat
 - a. Pembuatan Larutan Induk Fosfat, 500 mg/L $\text{PO}_4\text{-P}$
 - Menimbang serbuk KH_2PO_4 (jika kemurnian 100%) sebanyak 2,195 gram

Tabel 1. Alat dan bahan

No	Alat dan bahan	Kegunaan
Alat :		
1	Spektrofotometri	Menganalisa absorbansi larutan
2	Buret (25ml)	Mengukur volume larutan baku yang akan dijadikan larutan deret standar
3	Labu ukur (100ml)	Mengencerkan larutan
4	Pipet Volumetri	Memipet larutan/sampel air
5	Erlenmeyer (100ml)	Tempat untuk mencampurkan sampel dan pereaksi
6	Water steril	Sebagai blanko atau pelarut
7	Ball pipet	Menghisap larutan menggunakan pipet
8	Kuvet kaca	Wadah larutan yang akan diukur dengan spektrofotometer
Bahan :		
9	Hablur kalium dihidrogen fosfat (KH ₂ PO ₄)	Bahan standar
10	Asam sulfat (H ₂ SO ₄) 5N	Pereaksi
11	Ammonium Molibdate	Pereaksi
12	Kalium antimonil ttrat	Pereaksi
13	Asam askorbat	Pereaksi
14	Penolphtaelin	Pereaksi

- Memasukkannya kedalam labu ukur 1000 mL
- Melarutkannya dengan air bebas fosfat sampai tanda kemudian dikocok

*>mengoptimalkan spektrofotometer :

1. menyambungkan spektrofotometer ke aliran listrik, pastikan voltase listrik harus lebih besar dari pada voltase spektrofotometer.
2. Menekan tombol on/off untuk menghidupkan atau mematikan spektrofotometer.
3. Menunggu selama ±30 menit spektrofotometer mengkalibrasi secara otomatis

b. Pembuatan Larutan Baku Fosfat, 10 mg/L PO₄-P

- Memipet larutan induk fosfat sebanyak 2mL
- Memasukkannya kedalam labu ukur 100 mL
- Melarutkannya dengan air bebas fosfat sampai tanda batas kemudian dikocok

e. Mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 880 nm dalam kisaran waktu 10 sampai 30 menit.

c. Pembuatan Larutan Kerja Fosfat (0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0 mg/L PO₄-P)

- Memipet larutan fosfat sebanyak 0,0 mL; 5 mL; 10 mL; 20 mL; dan 25 mL larutan baku fosfat 10 mg/L PO₄-P masing-masing ke dalam labu ukur 250 mL.
- Melarutkannya dengan air bebas fosfat sampai tanda batas kemudian dikocok.

f. Mencatat absorbansinya pada formulir kerja.
g. Membuat kurva kalibrasinya.
h. Linieritas memenuhi kriteria jika $r \geq 0,97$

3) Langkah-langkah penentuan LOD

- a. Memipet air bebas fosfat sebanyak 50 mL
- b. Menambahkan 1 tetes indikator PP ke dalam larutan tersebut, jika berwarna merah tambahkan tetes demi tetes H₂SO₄ 5N sampai warna merah hilang
- c. Menambahkan 8 mL larutan campuran pereaksi ke dalam larutan tersebut dan aduk hingga homogen
- d. Mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 880 nm dalam kisaran waktu 10 sampai 30 menit
- e. Mencatat absorbansinya pada formulir kerja
- f. Menentukan konsentrasi fosfat yang terukur berdasarkan kurva kalibrasi standar
Konsentrasi blanko (mg/L) = (Absorbansi-a)/b
nilai a dan b diperoleh pada persamaan garis y = a+bx
- g. Melakukan 7 kali pengulangan

2) Langkah-langkah pembuatan kurva kalibrasi

- a. Mengoptimalkan spektrofotometer *>sesuai petunjuk penggunaan alat.
- b. Memipet masing-masing larutan kerja fosfat sebanyak 50 mL ke dalam erlenmeyer.
- c. Menambahkan 1 tetes indikator PP pada larutan tersebut, jika berwarna merah tambahkan tetes demi tetes H₂SO₄ 5N sampai warna merah hilang
- d. Menambahkan 8 mL larutan campuran pereaksi ke dalam larutan tersebut dan aduk sampai homogen

- h. Menentukan konsentrasi blanko rata-rata
- i. Menghitung standar deviasinya
- j. Menghitung nilai LOD
 $LOD = \text{Konsentrasi blanko rata-rata} + (K \cdot S)$
 Keterangan :
 K= Konstanta (3)
 * = kali (perkalian)
 S = simpangan baku/ standar deviasi dengan rumus sebagai berikut :

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - x^*)^2}{(n - 1)}}$$

Keterangan:

- X* = Konsentrasi rata-rata
- X = Nilai konsentrasi
- n = Jumlah pengulangan

- 4) Langkah-langkah penentuan LOQ
- a. Menentukan perkiraan nilai LOQ dengan rumus sebagai berikut:

$$LOQ = \text{Konsentrasi blanko rata-rata} + (K \cdot S)$$

Keterangan :

- K = Konstanta (5; 10 atau 15)
- * = kali (perkalian)
- S = Simpangan baku/standar deviasi (Rumus dapat dilihat pada langkah- → langkah penentuan LOD)

- b. Membuat larutan fosfat dengan konsentrasi sebagai berikut:

$$LOQ \text{ (mg/L)} = \text{konsentrasi blanko fosfat rata-rata} + 5 \cdot S$$

Larutan tersebut dibuat dengan cara mengencerkan larutan standar fosfat 0,2 mg/L. Nilai konsentrasi blanko rata-rata dan S diperoleh pada saat penentuan LOD.

- c. Memiper larutan tersebut sebanyak 50 mL dan memasukkannya kedalam erlenmeyer.
- d. Menambahkan 1 tetes indikator PP kedalam larutan tesebut, jika berwarna merah tambahkan tetes demi tetes H₂SO₄ 5N sampai warna merah hilang.
- e. Menambahkan 8 mL larutan campuran ke dalam larutan tersebut dan aduk hingga homogennya.
- f. Mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 880 nm dalam kisaran waktu 10 sampai 30 menit
- g. Melakukan 7 kali pengulangan
- h. Mencatat absorbansinya pada formulir kerja

- i. Menentukan konsentrasi fosfat yang terukur berdasarkan kurva kalibrasi standar

$$\text{Konsentrasi fosfat (mg/L)} = (\text{Absorbansi}-a)/b$$

nilai a dan b diperoleh pada persamaan garis

$$y = a+bx$$

Dihitung %RSD dan RSD horwitz dengan rumus sebagai berikut:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - X^*)^2}{(n - 1)}}$$

$$RSD = \frac{S}{X^*} \rightarrow \% RSD \text{ Percobaan} \text{ an} = \frac{S}{X^*} \times 100$$

$$RSD_{\text{Horwitz}} / \text{hitung} = 2^{1-0,5 \log C}$$

(Kantasubrata, 2013)

Keterangan:

- X* = Konsentrasi rata-rata
- X = Nilai konsentrasi
- n = Jumlah pengulangan

Keterangan:

- untuk C dalam 1% → C = 0,01
- untuk C dalam 1 ppm C= 10⁻⁶

- LOQ dapat diterima apabila didapatkan nilai yang cermat/teliti (presisi) yang ditunjukkan dengan nilai %RSD percobaan < 2/3 RSD Horwitz / hitung.
- % RSD Percobaan yaitu % relative standar deviasi yang didapat dari hasil percobaan yang dilakukan.
- % RSD Horwitz / hitung yaitu % relative standar deviasi yang didapatkan dari hasil percobaan dengan perhitungan menggunakan persamaan Horwitz.
- (persamaan Horwitz dapat dilihat diatas pada rumus RSD Horwitz).
- LOQ tidak dapat diterima apabila %RSD > 2/3 RSD Horwitz / hitung, agar LOQ diterima maka konsentrasi dinaikkan dengan menambah nilai konstanta menjadi 10 atau 15 sampai diperoleh nilai %RSD < 2/3 RSD Horwitz / hitung.

Hasil dan Pembahasan

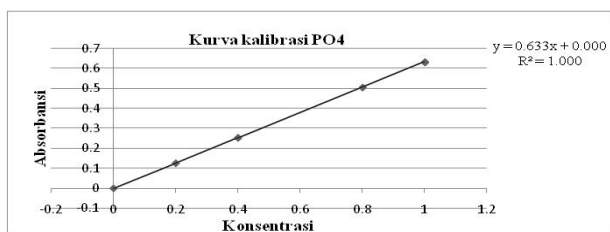
Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi dan absorbansi larutan standar fosfat memiliki hubungan berbanding lurus yang ditunjukkan dengan bertambahnya intensitas warna biru dari larutan standar fosfat konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (Gambar 1).

Kurva kalibrasi dengan 3 kali pengulangan memberikan hasil koefisien korelasi (r)=1 dengan persamaan regresi $y = 0,633x + 0,000$. Persamaan

regresi yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk penentuan (LOD) dan (LOQ). Kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 2

tersebut masih didapatkan nilai fosfat yang dapat terkuantifikasi yang ditunjukkan dengan nilai %RSD percobaan lebih kecil dari 2/3 RSD Horwitz/hitung. Karena sudah didapatkan nilai yang terkuantifikasi, maka pengukuran selanjutnya tidak perlu dilakukan pada konsentrasi fosfat yang lebih tinggi. Batas kuantisasi (LOQ) metode penentuan fosfat secara asam askorbat di BPPKSI adalah sebesar 0,005 mg/L.

Gambar 1. Larutan deret standar fosfat dari konsentrasi rendah ke tinggi (kiri ke kanan)



Gambar 2. Kurva kalibrasi fosfat

Hasil penelitian didapatkan nilai LOD metode penentuan fosfat secara asam askorbat di BPPKSI sebesar 0,00321 mg/L (Tabel 2). Konsentrasi fosfat di bawah 0,00321 mg/L tidak dapat terdeteksi.

Hasil Pengukuran LOQ disajikan pada Tabel 3. Penentuan LOQ dilakukan dengan mencoba pada larutan dengan konsentrasi fosfat 0,005 mg/L (konsentrasi blanko rata-rata + 5 S). Pada konsentrasi

Tabel 2. Hasil pengukuran LOD

No	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)
1	0,000	0,000
2	0,000	0,000
3	0,001	0,001
4	0,000	0,000
5	0,000	0,000
6	0,001	0,001
7	0,001	0,001
Konsentrasi blanko rata-rata		0,000677
=		
S =		0,000844
LOD =		0,00321

Tabel 3. Hasil pengukuran LOQ

No	Abs	C (mg/L)	Keterangan
1	0,005	0,007911	
2	0,005	0,007911	
3	0,005	0,007911	
4	0,005	0,007911	
5	0,006	0,009494	Konsentrasi fosfat yang
6	0,005	0,007911	diukur =
7	0,006	0,009494	Konsentrasi
S		0,000772	blanko rata-
Rata-rata		0,008363	rata + 5 S =
%RSD percobaan		9,231	0,005 mg/L
RSD Horwitz/hitung		32,9	
2/3 RSD Horwitz/hitung		21,915	

Tabel 4. Hasil pengukuran LOQ

No	Konsentrasi	
1	0.013	
2	0.011	
3	0.011	
4	0.011	
5	0.011	
6	0.012	
7	0.011	
8	0.010	
9	0.011	
10	0.011	
rata-rata		0.011
SD		0.00078881
%RSD percobaan		7.04295212
RSD Horwitz/hitung		31.5

Sebagai perbandingan, telah dilakukan penentuan LOQ oleh Raharjo (2011) pada organik fosfat, namun sayang tidak disebutkan metode yang digunakan. Hasil pengukuran LOQ diperoleh sebesar 0,010 mg/L pada larutan dengan (konsentrasi blanko rata-rata + 10 S). Pada konsentrasi tersebut masih didapatkan

nilai organofosfat yang dapat terkuantifikasi atau presisinya dapat diterima yang ditunjukkan dengan nilai %RSD percobaan < 2/3 RSD Horwitz/hitung. Nilai %RSD percobaan yang didapat yaitu sebesar 7,0429521 sedangkan nilai RSD Horwitz/hitung sebesar 35,1 dan nilai 2/3 RSD Horwitz/hitungnya sebesar 20,972522. Hasil pengukuran LOQ disajikan pada Tabel 4.

Nilai LOD dan LOQ dari suatu lembaga laboratorium yang terakreditasi sangat penting, karena nilai tersebut menunjukkan bahwa laboratorium memiliki nilai presisi yang dapat diterima.

KESIMPULAN

- Nilai LOD metode penentuan fosfat secara asam askorbat di BPPKSI sebesar 0,00321 mg/L. Konsentrasi fosfat dibawah 0,00321 mg/L tidak dapat terdeteksi.
- Nilai LOQ metode penentuan fosfat secara asam askorbat di BPPKSI adalah sebesar 0,005 mg/L

PERSANTUNAN

Penelitian ini merupakan bagian dari kegiatan untuk memenuhi persyaratan akreditasi laboratorium pengujian, BPPKSI yang dibiayai APBN TA 2013. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Fayakun Satria, S.Pi, M.App.Sc. selaku kepala Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumber Daya Ikan yang telah memberikan ijin dan dukungan dalam penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013. *Ortofosfat*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Ortofosfat>. Diakses pada tanggal 02 Mei 2014.
- Anonim. 2005. *Standar Methods for the Examination of Water & Wastewater: American Public Health and Association (APHA)*. 1-1 s/d 10-55 Hal.
- Anonim. 2005. *Metode pengukuran yang digunakan adalah SNI 06-6989.31-2005 (Air dan Air Limbah-Bagian 31 : Cara uji kadar fosfat dengan spektrofotometer secara asam askorbat)*. BSN. Jakarta. 6 Hal.
- Kantasubrata. J. 2013. *Teknik Pemilihan Metode Pengujian Di Laboratorium. Inhouse Training*. 15 Hal.
- Raharjo. T. J. 2011. *Pelatihan Tendik PLP Direktorat Pendidikan dan Tenaga Kependidikan Ditjen Dikti Kementrian Pendidikan Nasional*. <http://xa.yimg.com.../pengelolaan/metode/kerja>. 48 Hal. Diakses pada tanggal 8 Juli 2014.
- Riyadi. W. 2009. *Validasi Metode Analisis*. http://www.chem-is-try.org/artikel_kimia/kimia_analisis/validasi-metode-analisis/. Diakses pada tanggal 02 Mei 2014.
- Rumhayati.B.2010. *Studi Senyawa Fosfat dalam Sedimen dan Air menggunakan Teknik Diffusive Gradient in Thin Films (DGT)*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya. <http://jurnal.unej.ac.id/index.php/JID/article/viewFile/92/64>. Diakses pada tanggal 02 Mei 2014.