



Research Articles

Uji Kinerja Metode Asam Askorbat pada Pengukuran Kadar Fosfat dalam Air Permukaan secara Spektrofotometri

Performance Test of the Ascorbic Acid Method on the Measurement of Phosphate Levels in Surface Water by Spectrophotometry

Ardina Purnama Tirta, Anom Cahyotomo*, Herawati, Inda Mapiliandari, Esti Isnainiyati

Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor, Bogor, 16158, Indonesia

* *corresponding author, email: anomcahyotomo@aka.ac.id*

Manuscript received: 31-01-2023. Accepted: 20-03-2023

ABSTRAK

Fosfor mudah ditemui dalam bentuk senyawanya di alam, yaitu sebagai fosfat (PO_4^{3-}). Fosfat memiliki peranan penting sebagai nutrisi pembatas untuk tanaman dan hewan. Peningkatan fosfat di lingkungan perairan dapat menimbulkan dampak yang tidak diinginkan, diantaranya blooming algae, rendahnya oksigen terlarut, dan kematian beberapa hewan air. Penetapan fosfat di lingkungan perairan menjadi penting untuk dilakukan sebagai upaya monitoring. Uji kinerja terhadap metode uji penetapan fosfat perlu dilakukan untuk memberikan jaminan mutu hasil pengujian. Pada penelitian ini dilakukan uji kinerja metode asam askorbat dalam penetapan kadar fosfat secara spektrofotometri. Modifikasi yang dilakukan adalah dengan mengubah volume sampel dari 50 mL menjadi 10 mL. Uji kinerja terhadap parameter linieritas didapatkan persamaan regresi $y = 0,6379x + 0,0083$ dengan nilai koefisien korelasi, $r = 0,9999$ pada rentang konsentrasi 0,05 – 1,00 mg/L P_{PO_4} . Limit deteksi instrumen (LDI), limit deteksi metode (LDM), dan limit kuantisasi (LK) teoritis yang didapatkan berturut-turut adalah 0,01 mg/L, 0,02 mg/L, dan 0,04 mg/L P_{PO_4} . Nilai simpangan baku relatif (%SBR) sebesar 1,07% sebagai uji presisi. Rentang persen perolehan kembali (%recovery) yang didapatkan sebesar 99 – 102%. Nilai ketidakpastian relatif diperoleh sebesar 2,5% pada konsentrasi P_{PO_4} 0,40 mg/L. Uji robutsness pada volume sampel 50 dan 10 mL memberikan hasil uji F dan uji t yang diterima. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode asam askorbat dalam penetapan kadar fosfat secara spektrofotometri dengan modifikasi volume sampel memberikan hasil kinerja metode yang dapat diterima.

Kata kunci: kinerja metode; fosfat; modifikasi; spektrofotometri

ABSTRACT

Phosphorus is easily found in its compound form in nature, namely as phosphate (PO_4^{3-}). Phosphates have an essential role in limiting nutrients for plants and animals. An increase of phosphate in the aquatic environment can cause unwanted impacts, including blooming algae, low dissolved oxygen, and the death of certain aquatic animals. Determination of phosphate in the aquatic environment is

critical to do as a monitoring effort. The performance test of the phosphate determination method needs to be carried out to provide quality assurance of the test results. In this study, the performance test of the ascorbic acid method was carried out in the determination of phosphate levels by spectrophotometry. The modification was made by changing the sample volume from 50 mL to 10 mL. The performance test on the linearity parameter obtained the regression equation $y = 0.6379x + 0.0083$ with a correlation coefficient value, $r = 0.9999$ in the concentration range of 0.05 – 1.00 mg/L P_PO4. The instrument detection limit (IDL), method detection limit (MDL), and the theoretical limit of quantitation (LoQ) obtained were 0.01 mg/L, 0.02 mg/L, and 0.04 mg/L P_PO4, respectively. As a precision test, the value of the relative standard deviation percentage (%RSD) is 1.07%. The range of percent recovery (%recovery) obtained was 99 – 102%. The relative uncertainty value was obtained at 2.5% at 0.40 mg/L P_PO4 concentration. Robustness tests at 50 mL and 10 mL sample volumes gave acceptable F-test and t-test results. The results showed that the ascorbic acid method in determining phosphate levels by spectrophotometry with modification of the sample volume gave acceptable method performance results.

Key words: performance method; phosphate; modification; spectrophotometry

PENDAHULUAN

Fosfor merupakan nutrisi penting untuk tanaman dan hewan dalam kaitannya membentuk rantai makanan di perairan. Fosfor merupakan nutrisi yang terbatas di hampir semua perairan tawar, bahkan sedikit peningkatan fosfor, di bawah kondisi yang tepat, dapat merubah seluruh rantai yang tidak diinginkan di sungai termasuk pertumbuhan tanaman dipercepat, blooming alga, oksigen terlarut rendah, dan kematian ikan tertentu, invertebrata, dan hewan air lainnya. (<http://water.epa.gov/type/rsl/monitoring/vms56.cfm>).

Unsur murni fosfor sulit ditemukan. Di alam, fosfor biasanya ada sebagai bagian dari ion fosfat (PO₄³⁻). Fosfor dalam sistem perairan ditemukan sebagai fosfat organik dan fosfat anorganik. Fosfat organik terdiri dari molekul fosfat yang berikatan dengan molekul berbasis karbon, seperti pada tumbuhan atau jaringan hewan. Fosfor anorganik adalah bentuk yang dibutuhkan oleh tanaman.

Sebagaimana mineral lain, fosfor juga mengalami siklus keberadaannya di alam. Siklus fosfor adalah siklus biogeokimia yang menjelaskan aliran fosfor di alam. Tidak seperti siklus biogeokimia lainnya, siklus fosfor hanya melalui litosfer, hidrosfer, dan biosfer, tidak melalui lapisan atmosfer. Siklus fosfor di tanah telah banyak menyita perhatian, dari sekitar 122.600 Tg P dalam sistem tanah / biota di alam, hampir 98% tersedia di tanah dalam berbagai bentuk. Pertukaran P antara biota dan tanah relatif cepat, dengan waktu tinggal rata-rata 13 tahun, sedangkan waktu tinggal rata-rata P dalam tanah adalah 600 tahun. Sumber pelapukan yang signifikan untuk fosfor dalam tanah adalah mineral apatit.

Di tanah, fosfor dilepaskan dari batuan mineral melalui beberapa proses. Pertama, menurunnya nilai pH dihasilkan dari proses respirasi yang dihubungkan dengan kadar CO₂ di sekitar bahan organik dan akar, melarutkan mineral yang mengandung P (terutama apatit) dan merilis P yang dapat diserap oleh akar. Kedua, asam organik yang dihasilkan dari akar tanaman juga dapat melarutkan mineral apatit dan melepaskan P ke ruang pori tanah. Fosfor yang tersedia dalam tanah sebagian besar dalam bentuk organik, yang tidak dapat langsung diakses untuk nutrisi tanaman. Tanaman telah mengembangkan dua cara khusus untuk meningkatkan pasokan P ke akar. Pertama, tanaman dan mikroba tanah mengeluarkan fosfatase, enzim yang

dapat melepaskan P anorganik yang tersedia dari bahan organik. Kedua, terjadinya simbiosis mutualisme antara jamur mikoriza yang hidup menyelimuti akar. Jamur mikoriza mengeluarkan enzim fosfatase dan asam organik untuk melepaskan P dan menyediakan sisi serapan aktif untuk proses difusi P dari ruang pori tanah ke permukaan akar. Sebagai gantinya, tanaman menyediakan karbohidrat untuk jamur mikoriza (Filippelli).

Dalam proses rantai makanan, herbivora mendapatkan fosfor dari tumbuhan yang dimakannya. Selanjutnya karnivora mendapatkan fosfat dari herbivora yang dimakannya. Ikan dan tanaman mengkonsumsi atau menyerap fosfor dari sumber alam dan manusia dan tetap di dalam organisme tersebut sampai punah dan melepaskan fosfor ke tanah.

Fosfor merupakan salah satu pencemar di perairan yang dapat menyebabkan proses eutrofikasi. Eutrofikasi merupakan pengkayaan nutrisi pada badan air yang menghasilkan pertumbuhan biomassa yang berlebih sebagai hasil dari proses fotosintesis. Fosfat dan Nitrogen adalah elemen nutrisi utama yang penting dalam perkembangan pertumbuhan alga (Golterman, Han L. 2004 , Harris Graham P.2001). Menurut Connel dan Miller (1995) bahwa pengkayaan unsur hara (eutrofikasi) pada daerah perairan merupakan suatu proses yang penting dalam pencemaran air. Eutrofikasi sebagai suatu pengkayaan unsur hara pada air, menyebabkan rangsangan pada suatu susunan perubahan simptomatik yang meningkatkan produksi ganggang dan makrofit, memburuknya sumber daya perikanan, menurunnya kualitas dan perubahan lainnya yang tidak dikehendaki. Menurut Manahan, S. E. 2005, eutrofikasi merupakan pengayaan (enrichment) nutrient (nitrogen dan fosfor) berupa bahan anorganik yang sangat dibutuhkan oleh tumbuhan dan dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan produktivitas primer perairan.

Penetapan fosfat di perairan perlu dilakukan sebagai salah satu upaya monitoring lingkungan perairan. Berdasarkan ISO 17025 : 2017 klausul 7.2 terkait seleksi, verifikasi dan validasi metode, dinyatakan bahwa sebelum melakukan pengujian, laboratorium harus melakukan pemilihan metode pengujian yang akan digunakan. Metode yang telah dipilih perlu diuji validitas hasilnya sebelum digunakan untuk analisis rutin. Salah satu metode acuan untuk analisis fosfat dalam sampel air yaitu metode SNI 06-6989.31-2005 tentang cara uji kadar fosfat dengan spektrofotometer secara asam askorbat. Pada metode standar digunakan volume sampel sebanyak 50 mL dan pereaksi campur sebanyak 8 mL. Pada sampel lingkungan ataupun penelitian, terkadang jumlah sampel yang tersedia sangat sedikit, sehingga diperlukan penyesuaian jumlah sampel yang digunakan. Selain itu, penggunaan pereaksi yang banyak menimbulkan dampak berupa limbah yang banyak dan biaya yang relatif tinggi. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji kinerja metode asam askorbat dalam sampel air dengan melakukan modifikasi jumlah sampel yang digunakan dari 50 mL menjadi 10 mL dan jumlah pereaksi campur dari 8 mL menjadi 1,6 mL. Uji kinerja metode dilakukan terhadap parameter linieritas, limit deteksi instrumen (LDI) teoritis, uji presisi, akurasi, robutsness dan perhitungan estimasi ketidakpastian pengukuran. Hasil uji kinerja metode kemudian dibandingkan dengan persyaratan yang ditetapkan oleh laboratorium dengan mengacu kepada beberapa standar.

BAHAN DAN METODE

Waktu, Kondisi, dan Tempat Percobaan

Penelitian ini merupakan percobaan ekperimental yang dilakukan di *Laboratorium Politeknik AKA Bogor*, posisi geografis di $6^{\circ}33'55.9''\text{S}$ $106^{\circ}49'17.8''\text{E}$ dengan ketinggian 182 mdpl. Penelitian dilakukan pada bulan September sampai November 2022.

Bahan

Bahan yang digunakan terdiri dari bahan uji dan bahan kimia. Bahan uji yang digunakan, yaitu sampel air danau. Bahan kimia yang digunakan, yaitu larutan asam sulfat (H_2SO_4) 5 N, padatan kalium antimoniltartarat ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_{10} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$), padatan ammonium heptamolibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), padatan asam askorbat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), larutan induk fosfat $\text{PO}_4\text{-P}$ 1000 mg/L, akuabides, dan akuades.

Alat

Alat-alat yang digunakan terdiri dari alat utama dan alat penunjang. Alat utama adalah spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*) dan alat penunjang ialah neraca analitik, labu takar 100 mL, pipet mohr 5 mL, piala gelas dan buret 25 mL.

Perlakuan dan Desain Percobaan

Metode penelitian terdiri dari pembuatan pereaksi, uji parameter verifikasi dan pengolahan data secara statistik. Verifikasi terhadap metode penetapan fosfat dalam sampel air dilakukan terhadap parameter uji linieritas, limit deteksi instrumen teoritis ($\text{LDI}_{\text{teoritis}}$), limit kuantisasi teoritis ($\text{LK}_{\text{teoritis}}$), uji presisi, uji akurasi, uji robutsness dan perhitungan estimasi ketidakpastian pengujian.

Pembuatan Pereaksi Kombinasi. Larutan dibuat dengan mencampurkan 50 mL H_2SO_4 5 N, 5 mL larutan kalium antimonyl-tartrat, 15 mL larutan ammonium molibdat 4%, dan 30 mL asam askorbat 0,1 M ke dalam labu.

Pembuatan Larutan Standar Fosfat. Pembuatan larutan induk fosfat 500 ppm dilakukan dengan melarutkan 0,2195 gram KH_2PO_4 dalam labu takar 100 mL. Larutan standar fosfat dibuat dalam konsentrasi 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 ppm.

Pengujian Sampel. Sampel sebanyak 10 mL dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1,6 mL pereaksi kombinasi. Diamkan larutan selama 10 menit sampai muncul warna biru, kemudian absorban larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV Vis pada λ_{maks} .

Uji Kinerja Metode

Uji Linieritas. Uji linieritas dilakukan dengan membuat deret standar P dengan konsentrasi 0,00; 0,01; 0,05 ;0,10 ;0,20 ;0,40 ;0,60 ;0,80 dan 1,00 masing-masing sebanyak 3x ulangan. Linearitas ditentukan dari hubungan absorbansi dan konsentrasi, sehingga diperoleh nilai koefisien korelasi (r), *intercept* (a), dan *slope* (b) pada analisis regresi linear

Uji $LDI_{teoritis}$ dan $LK_{teoritis}$. Nilai $LDI_{teoritis}$ dan $LK_{teoritis}$ ditetapkan berdasarkan data yang diperoleh dari kurva kalibrasi dengan rumus sebagai berikut:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(Y_i - Y_c)^2}{n - 2}}$$

$$LDI_{teoritis} = 3 \times \frac{S_{y/x}}{b}$$

$$LK_{teoritis} = 10 \times \frac{S_{y/x}}{b}$$

Keterangan :

- Y_i = nilai absorban deret standar ke-i
- Y_c = nilai absorban berdasarkan persamaan regresi
- n = jumlah deret standar
- b = slope

Uji Presisi. Disiapkan tujuh larutan sampel sebagaimana cara kerja pengujian sampel. Kemudian dihitung nilai %RSD (*Relative Standard Deviation*).

Uji Akurasi. Uji akurasi dilakukan sebagaimana penetapan presisi sampel tetapi sebelumnya lakukan teknik spiking dengan cara menambahkan standar analit P_{PO_4} dengan konsentrasi 0,40 mg/L. Serapan bahan uji diukur, kemudian persentase perolehan kembali (*%Recovery*) dihitung menggunakan rumus berikut:

Rumus :

$$\%Recovery = \frac{C_3 - C_2}{C_1} \times 100\%$$

Keterangan :

- C_1 = Konsentrasi/kadar analit dalam standar
- C_2 = Konsentrasi/kadar analit dalam sampel
- C_3 = Konsentrasi/kadar analit dalam campuran sampel dan spike standar

Uji Robustness. Uji *robustness* dilakukan sebagaimana penetapan presisi sampel tetapi dilakukan dengan dua perlakuan. Perlakuan 1 yaitu volume sampel 50 mL dengan 8 mL pereaksi campur, perlakuan 2 yaitu volume sampel 10 mL dengan 1,6 mL pereaksi campur. Serapan bahan uji diukur, kemudian dilakukan uji F dan uji t.

Analisis Data.

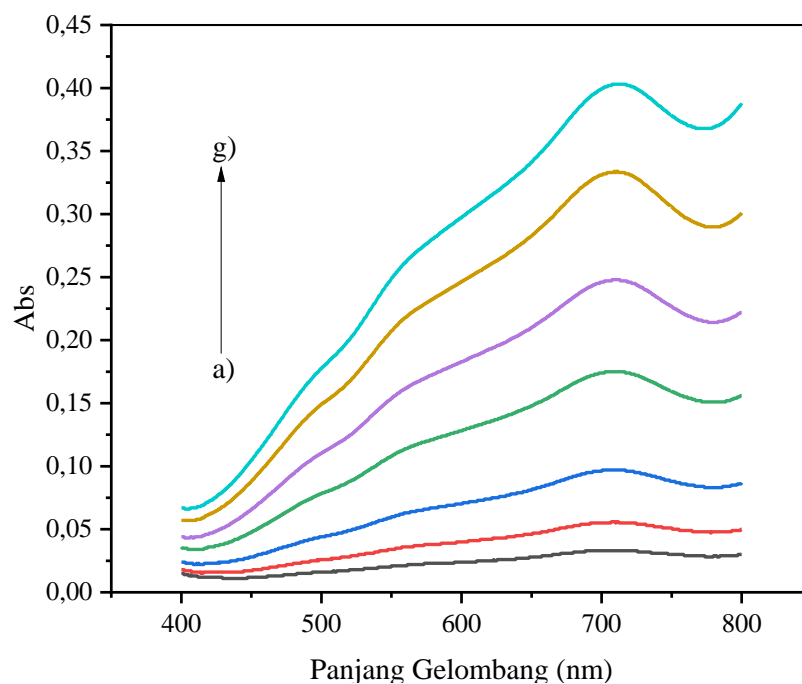
Data dianalisis dengan Microsoft excel, uji-F dan uji-t dilakukan pada tingkat kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis fosfat metode asam askorbat secara spektrofotometri sinar tampak memiliki prinsip penetapan yaitu ammonium molibdat dan kalium antimonil tartarat dalam suasana asam bereaksi dengan fosfat membentuk senyawa asam fosfomolibdat, kemudian direduksi oleh asam askorbat menjadi kompleks biru molibden (SNI 06-6989.31 2005). Larutan kompleks biru molibden diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *Visible* pada panjang gelombang maksimumnya.

Screening Panjang Gelombang Maksimum ($\lambda_{maks.}$)

Penentuan panjang gelombang maksimum ($\lambda_{maks.}$) dilakukan dengan *screening* serapan larutan deret standar P_{PO_4} . Screening dilakukan pada range panjang gelombang 800 – 400 nm dengan scan rate 0,5 nm. Hasil *screening* λ_{maks} dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil Serapan Larutan P_{PO_4} pada Rentang Panjang Gelombang 400 – 800 nm dengan konsentrasi a) 0,05; b) 0,10; c) 0,20; d) 0,40; e) 0,60; f) 0,80; dan g) 1,00 mg/L.

. Gambar 1 menunjukkan hasil screening λ_{maks} , diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 710 nm. Dengan demikian, analisis kandungan fosfat dilakukan menggunakan panjang gelombang 710 nm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum untuk meningkatkan sensitivitas pembacaan. Hasil uji kinerja metode asam askorbat dalam penetapan orthofosfat dalam sampel air permukaan berdasarkan SNI 06-6989.31 2005 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel.1 Hasil Uji Kinerja Metode Asam Askorbat dalam Penetapan Ortho-Fosfat dalam Sampel Air Permukaan Secara Spektrofotometri (SNI 06-6989.31 2005).

Parameter	Hasil Uji	Syarat Keberterimaan	Keterangan	Acuan syarat Keberterimaan
Linieritas (0,00; 0,01; 0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00 mg/L)	$r = 0,9999$	$r \geq 0,9700$	MS	SNI 06-6989.31 2005 Laboratorium
	$a(0,008) \leq 0,01$	Intercept (a) \leq LDI	MS	
	Presisi, akurasi deret diterima	Deret standar terkuantisasi	MS	
$LDI_{teoritis}$	0,01 mg/L (terkonfirmasi positif, presisi dan akurasi tidak diterima)	Terkonfirmasi positif, tidak terkuantisasi	MS	Laboratorium
$LDM_{teoritis}$	0,02 mg/L (terkonfirmasi positif, presisi dan akurasi tidak diterima)	Terkonfirmasi positif, tidak terkuantisasi	MS	Laboratorium
$LK_{teoritis}$	0,04 mg/L	Terkonfirmasi positif, terkuantisasi	Perlu konfirmasi	Laboratorium
Presisi	(%RSD = 1,07) < 5%	%RSD < 5%	MS	SNI 06-6989.31 2005
Akurasi	%Rec = (99,47 – 102,21)%	%Rec = (85 – 115)%	MS	SNI 06-6989.31 2005
Uji <i>Robutsness</i>	F-hit (0,95) < F-tabel (4,28) t-hitung (1,06) < t-tabel (1,18)	F-hit < F-tabel t-hitung < t-tabel	MS	NATA 2008
Estimasi	(0,40 ± 0,01) mg/L Ketidakpastian relatif = 2,50%	Ketidakpastian relatif < 10%	MS	Laboratorium

Keterangan: MS = Memenuhi Syarat

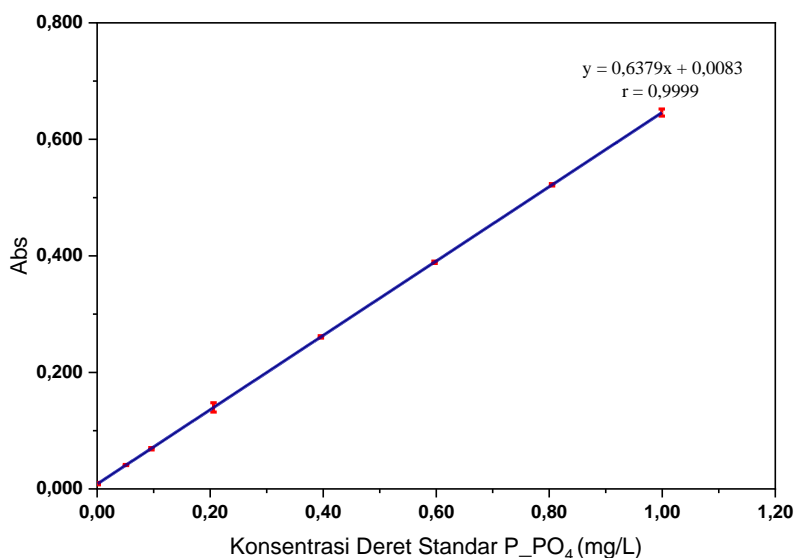
Hasil Uji Linearitas

Linearitas adalah kemampuan alat untuk memberikan respon proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Penentuan linearitas hanya mencakup pengukuran instrumental. Pengujian linearitas dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon yang proporsional antara konsentrasi analit terhadap respon yang diberikan alat ukur pada rentang konsentrasi tertentu. Uji linieritas dapat memberikan batasan minimum dan maksimum konsentrasi deret standar yang dapat diukur pada suatu metode.

Uji linearitas pada pengujian fosfat dalam air permukaan ini dilakukan dengan mengukur larutan deret standar dengan konsentrasi 0,00; 0,01; 0,05; 0,10 ;0,20 ;0,40 ;0,60; 0,80 dan 1,00 mg/L masing-masing sebanyak 4 kali ulangan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

Hasil pengukuran deret standar disajikan dalam bentuk kurva yang dapat dilihat pada Gambar 2.

Data pada Gambar 2. diperoleh nilai r sebesar 0,9999, nilai r yang dihasilkan telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan yang mengacu pada SNI 06-6989.31 2005 yaitu nilai $r \geq 0,970$. Nilai koefisien korelasi menunjukkan bahwa konsentrasi P_{PO_4} dalam rentang (0,05 – 1,00) mg/L mampu memberikan hasil yang proporsional dengan respon alat (absorban). Perubahan yang terjadi secara proporsional antara kadar analit dengan respon instrumen membentuk satu garis lurus.



Gambar 2. Kurva Hubungan antara Konsentrasi Standar P_{PO_4} (mg/L) dan Absorbansi (Abs)

Garis lurus yang terbentuk menciptakan persamaan regresi. Pada penetapan kadar P_{PO_4} dalam air permukaan memiliki persamaan regresi $y = 0,6379x + 0,0083$. Nilai *intercept* sebesar 0,0083 menunjukkan bahwa pada konsentrasi P_{PO_4} 0 $\mu\text{g/mL}$, nilai absorban yang terukur oleh instrumen sebesar 0,0083 abs. Nilai *intercept* menunjukkan derau (*noise*) dari instrumen. Nilai *slope* sebesar 0,6379 menunjukkan nilai sensitivitas, yaitu setiap kenaikan 1 mg/L P_{PO_4} akan menaikkan nilai absorban sebesar 0,6379 kali.

Proporsionalitas kurva dapat ditentukan dengan menghitung nilai sudut yang terbentuk pada kuva melalui rumus nilai $\tan \alpha = \text{slope: } (y/x)$, setelah dihitung diperoleh nilai α sebesar $44,07^\circ$. Nilai *slope* ideal adalah sebesar 45° , namun umumnya laboratorium memiliki toleransi sebesar $\pm 10^\circ$ untuk mengevaluasi nilai sensitivitas kurva. Sehingga dapat dinyatakan nilai α sebesar $44,07^\circ$ pada kurva kalibrasi penetapan P_{PO_4} metode asam askorbat secara spektrofotometri diterima. Nilai sudut yang lebih kecil dari nilai idealnya menggambarkan bahwa perubahan nilai konsentrasi menghasilkan respon alat (absorbansi) yang kurang sensitif. Sedangkan nilai sudut yang lebih besar juga tidak diharapkan, karena respon yang terlalu sensitif akan memperpendek rentang linieritas. Data lengkap hasil uji linieritas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Linieritas Penetapan P_{PO4} Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri

Konsentrasi Deret Standar P _{PO4} (mg/L)	Abs	Konsentrasi P _{PO4} Terukur (mg/L)	%RSD	%Trueness
0,00	0,009	0,001 ± 0,002	231,96	-
0,01	0,015	0,010 ± 0,002	20,49	75 – 122
0,05	0,041	0,051 ± 0,001	2,49	100 – 106
0,10	0,069	0,096 ± 0,002	2,46	92 – 97
0,20	0,140	0,206 ± 0,008	3,64	99 – 107
0,40	0,261	0,396 ± 0,002	0,38	99
0,60	0,389	0,597 ± 0,002	0,33	99 – 100
0,80	0,522	0,805 ± 0,002	0,25	100 – 101
1,00	0,646	0,999 ± 0,006	0,58	99 – 100

Tan α	0,968
α	44,07°

Data pada Tabel 2 menunjukkan pengukuran deret standar konsentrasi 0,00; 0,01; 0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 dan 1,00 mg/L P_{PO4} masing-masing sebanyak 4 kali ulangan. Data dari masing-masing level konsentrasi dievaluasi nilai presisi dan akurasi dengan menghitung nilai %RSD dan %trueness nilai konsentrasi terukur terhadap nilai teoritisnya. Persyaratan presisi untuk deret standar yaitu %RSD < 5%, dan %trueness berada pada rentang (90-110)%. Suatu larutan dapat dijadikan deret standar jika nilai presisi dan akurasi diterima. Berdasarkan data pada Tabel 2, nilai konsentrasi standar 0,01 mg/L tidak memenuhi syarat presisi dan akurasi. Sedangkan konsentrasi 0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 dan 1,00 mg/L P_{PO4} telah memenuhi syarat presisi dan akurasi. Sehingga untuk analisis rutin di laboratorium, deret standar pada rentang 0,05 - 0,10 µg/mL P_{PO4} dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

Hasil Uji LDI_{teoritis} dan LK_{teoritis}

Limit deteksi instrumen adalah kadar analit terendah yang mampu menghasilkan pembacaan yang terdeteksi, namun tidak terkuantisasi. Sedangkan limit kuantisasi adalah kadar analit terendah yang mampu menghasilkan pembacaan yang presisi dan akurat. Nilai limit deteksi instrumen dan limit kuantisasi pengujian merupakan kemampuan sekaligus keterbatasan laboratorium dalam menerapkan suatu metode pengujian pada kadar rendah metode tersebut.

Nilai Limit deteksi Instrumen (LDI) dan Limit Kuantisasi (LK) dapat dihitung menggunakan beberapa cara, diantaranya: uji coba pengukuran menggunakan larutan blanko, uji coba pengukuran menggunakan *spike* larutan standar dengan konsentrasi mendekati nilai *intercept*, perbandingan sinyal per-noise, dan perhitungan berdasarkan kurva kalibrasi. Pada percobaan ini, nilai limit deteksi instrumen dan limit kuantisasi teoritis dihitung berdasarkan kurva kalibrasi. Hasil perhitungan limit deteksi instrumen dan limit kuantisasi teoritis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Limit Deteksi Instrumen dan Limit Kuantisasi Penetapan Kadar P_PO₄ Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri

xi	yi	yc	yi-yc	(yi-yc) ²
0,00	0,009	0,0083	0,0005	0,00000023
0,05	0,041	0,0402	0,0008	0,00000070
0,10	0,069	0,0721	-0,0028	0,00000788
0,20	0,140	0,1358	0,0039	0,00001524
0,40	0,261	0,2634	-0,0027	0,00000715
0,60	0,389	0,3910	-0,0023	0,00000507
0,80	0,522	0,5186	0,0032	0,00001005
1,00	0,646	0,6462	-0,0007	0,00000043
n	8		Σ (yi-yc) ²	0,00004676
n-2	6			
Sy/x	0,0028			
Intercept (a)	0,0083			
Slope (b)	0,6379			
Xr	0,394			
LDI_{teoritis}	0,01 mg/L			
LDM_{teoritis}	0,02 mg/L			
LK_{teoritis}	0,04 mg/L			

Berdasarkan data pada Tabel 3. diperoleh nilai LDI_{teoritis} sebesar 0,01 mg/L, LDM_{teoritis} sebesar 0,02 mg/L dan nilai LK_{teoritis} sebesar 0,04 mg/L. Nilai ini perlu dikonfirmasi untuk memastikan kebenaran nilai teoritis dari hasil pendugaan. Konfirmasi nilai LDI, LDM dan LK teoritis dilakukan dengan membuat larutan standar dengan konsentrasi sesuai nilai teoritisnya dengan beberapa kali ulangan. Hasil pengukuran uji konfirmasi dievaluasi nilai presisi dan akurasi. Nilai LDI_{teoritis} dan LDM_{teoritis} terkonfirmasi jika hasil pengujian memberikan nilai konsentrasi positif, namun tidak terkuantisasi, yaitu untuk setiap ulangan hasil ukur positif, tapi tidak memberikan nilai presisi dan akurasi yang diterima. Sedangkan untuk nilai LK terkonfirmasi jika hasil pengukuran memberikan nilai terkuantisasi, yaitu nilai presisi dan akurasi diterima. Hasil konfirmasi LDI_{teoritis} sebesar 0,01 mg/L telah terkonfirmasi merujuk pada data hasil uji linieritas. Sehingga bisa disimpulkan nilai LDI penetapan P_PO₄ metode asam askorbat secara spektrofotometri sebesar 0,01 mg/L telah terkonfirmasi.

Nilai limit kuantisasi merupakan nilai konsentrasi terendah yang memberikan nilai presisi dan akurat, sehingga nilai limit kuantisasi ini biasa dijadikan sebagai konsentrasi terkecil dari deret standar. Nilai limit kuantisasi disebut juga sebagai nilai limit pelaporan, yaitu batasan konsentrasi terkecil yang dapat dilaporkan karena telah memenuhi syarat presisi dan akurat. Oleh karena itu, nilai limit kuantisasi menjadi batasan suatu metode terhadap ketentuan yang dipersyaratkan. Nilai LK_{teoritis} sebesar 0,04 mg/L belum terkonfirmasi, sehingga belum bisa disimpulkan nilai LK untuk penetapan P_PO₄ metode asam askorbat secara spektrofotometri. Namun pada konsentrasi P_PO₄ 0,05 mg/L berdasarkan data uji linieritas memberikan hasil terkuantisasi.

Hasil Uji Presisi

Presisi merupakan kedekatan antara hasil pengujian yang dilakukan secara independen dalam waktu yang sesingkat mungkin pada kondisi yang relatif sama (Eurachem, 2014). Uji presisi yang dilakukan adalah uji terhadap keterulangan (*repeatability*) yang dilakukan oleh satu orang analis sebanyak tujuh kali pengulangan pada laboratorium yang sama menggunakan peralatan yang sama dan dilakukan pada hari yang sama. Presisi dinyatakan dalam nilai persen simpangan baku relatif (%SBR). Data hasil pengujian presisi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 1. Hasil Uji Presisi Penetapan Penetapan Kadar P_PO₄ Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri

Ulangan	Abs	Kadar P_PO ₄ (mg/L)
1	0,264	0,401
2	0,266	0,404
3	0,263	0,399
4	0,262	0,398
5	0,269	0,409
6	0,266	0,404
7	0,269	0,409
rata rata		0,403
SD		0,0043
%SBR		1,07

Berdasarkan data pada Tabel 4. Diperoleh hasil uji presisi penetapan metode penetapan P_PO₄ dalam air permukaan metode asam askorbat secara spektrofotometri memberikan nilai %SBR sebesar 1,07%. Hasil pengujian presisi ini telah memenuhi syarat keberterimaan yang mengacu pada SNI 06-6989.31 2005 yaitu %SBR ≤ 5%. Nilai presisi menunjukkan kesalahan acak yang terjadi pada metode. Kesalahan acak (*random*) atau disebut juga kesalahan yang tidak tergantung (*indeterminate error*) merupakan kesalahan yang nilainya tidak dapat diramalkan dan tidak ada aturan yang mengaturnya, serta nilainya berfluktuasi (Eurachem, 2014). Data yang presisi bukan berarti nilai ulangan yang persis sama, namun kesalahan acak yang terjadi harus berada dalam batas keberterimaan yang dipersyaratkan. Kesalahan acak dapat bersumber dari ketidakstabilan tegangan arus listrik, ketidakstabilan instrumen, variasi kemurnian bahan kimia, variasi kontaminasi, variasi lingkungan (fluktuasi suhu atau kelembaban udara), atau tidak konsistennya analis dalam melakukan pengujian (Eurachem, 2014). Kesalahan acak tidak dapat dihilangkan, namun dapat diminimalisir dengan memperbanyak jumlah pengujian (pengulangan).

Hasil Uji Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (Eurachem, 2014). Uji akurasi dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya pengukuran *Certified Reference Material* (CRM), *Standard Reference Material* (SRM), perbandingan jumlah sampel yang berbeda, metode *spiking*, dan uji banding. Pada percobaan ini uji akurasi dilakukan dengan teknik *spiking*, yaitu dengan menambahkan larutan

standar P_{PO₄} dengan konsentrasi 0,40 mg/L ke dalam sampel sebanyak tujuh kali pengulangan. Bahan uji akurasi ini sama dengan bahan uji presisi, hal ini dikarenakan hasil pengujian sampel menunjukkan nilai absorban negatif. Nilai akurasi dinyatakan sebagai nilai persen perolehan kembali (%*recovery*) terhadap konsentrasi standar yang ditambahkan. Hasil uji akurasi penetapan kadar P_{PO₄} metode asam askorbat secara spektrofotometri dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 2. Hasil Uji Akurasi Penetapan Kadar P_{PO₄} dalam Air Permukaan Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri

Ulangan	Abs	Conc. P _{PO₄} (mg/L)	% <i>Recovery</i>
1	0,264	0,401	100
2	0,266	0,404	101
3	0,263	0,399	100
4	0,262	0,398	99
5	0,269	0,409	102
6	0,266	0,404	101
7	0,269	0,409	102
rata rata		0,403	101
% <i>Recovery</i> = (99 – 102)%			

Berdasarkan data Tabel 5, diperoleh nilai %*recovery* yang diperoleh dari penetapan kadar P_{PO₄} dalam air permukaan metode asam askorbat secara spektrofotometri berada dalam rentang (99 – 102)%. Hasil pengujian akurasi ini telah memenuhi syarat keberterimaan yang mengacu pada SNI 06-6989.31 2005 yaitu %*recovery* berada dalam rentang (85 – 115)%.

Nilai %*recovery* menunjukkan kesalahan sistematis. Kesalahan sistematis adalah kesalahan yang bersifat konstan. Kesalahan sistematis dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya: peralatan yang tidak terkalibrasi, nilai koreksi instrumen yang diperoleh dari hasil kalibrasi tidak digunakan, penguapan, difusi, absorpsi atau adsorpsi analit pada contoh uji yang dianalisis, metode yang tidak selektif, interferensi dari matriks sampel (Eurachem, 2014).

Hasil Uji Robustness

Pada penelitian ini dilakukan uji kinerja metode asam askorbat dalam sampel air dengan melakukan modifikasi jumlah sampel yang digunakan dari 50 mL menjadi 10 mL dan jumlah pereaksi campur dari 8 mL menjadi 1,6 mL. Uji *robustness* dilakukan untuk mengetahui apakah dengan modifikasi yang dilakukan, metode uji memberikan nilai presisi dan akurasi yang berbeda nyata atau tidak. Uji *robustness* dilakukan dengan menetapkan kadar P_{PO₄} dalam sampel yang sama menggunakan 2 metode yang berbeda, yaitu volume sampel 50 mL dan 10 mL. Hasil uji *robustness* dapat dilihat pada Tabel 6 berikut:

Tabel 6. Hasil Uji *Robustness* Penetapan Penetapan Kadar P_PO₄ dalam Air Permukaan Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri

Vsampel	50 mL		10 mL	
	Abs	Conc. P_PO ₄ (mg/L)	Abs	Conc. P_PO ₄ (mg/L)
1	0,149	0,3622	0,153	0,3723
2	0,151	0,3673	0,155	0,3774
3	0,151	0,3673	0,155	0,3774
4	0,153	0,3723	0,165	0,4026
5	0,157	0,3824	0,154	0,3748
6	0,161	0,3925	0,154	0,3748
7	0,156	0,3799	0,157	0,3824
Rerata		0,3748		0,3802
SD		0,0106		0,0103
		F _{hit}		0,95
		F _{tabel}		4,28
		t _{hitung}		1,06
		t _{tabel}		1,18

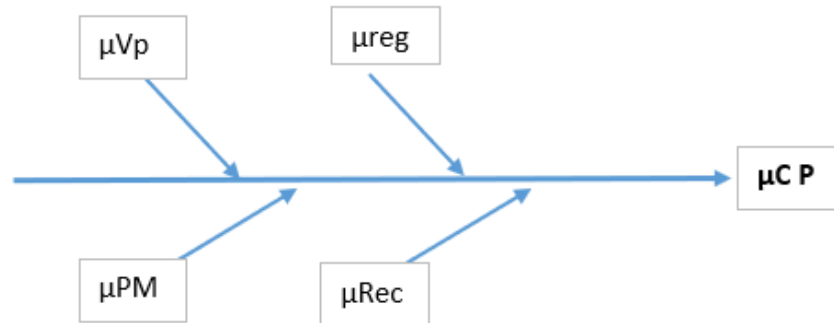
Hasil uji *robustness* terhadap volume sampel 50 mL dan 10 mL memberikan hasil $F_{hit} (0,95) < F_{tabel} (4,28)$, hal ini menunjukkan bahwa kedua perlakuan memberikan simpangan baku yang tidak berbeda nyata. Hasil $t_{hitung} (1,06) < t_{tabel} (1,18)$ menunjukkan bahwa kedua perlakuan memberikan hasil rerata pengujian yang tidak berbeda nyata. Sehingga dapat disimpulkan modifikasi volume sampel 50 mL menjadi 10 mL memberikan nilai presisi dan akurasi yang tidak berbeda nyata.

Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

Ketidakpastian merupakan parameter yang berhubungan dengan hasil pengukuran atau pengujian yang menggambarkan sebaran data hasil pengukuran. Dalam kimia analisis, pengujian tidak lepas dari galat, baik sistematis maupun acak. Hal ini yang menyebabkan nilai benar sulit untuk diketahui. Namun nilai benar itu diyakini terletak pada rentang ketidakpastian pengukuran dengan derajat kepercayaan tertentu. Mengukur rentang ketidakpastian dikenal dengan estimasi ketidakpastian pengukuran.

Pada penelitian ini, nilai estimasi dihitung dengan pendekatan bottom up (Tomáš.et.al,2022). Menghitung estimasi ketidakpastian suatu pengujian kimia dilakukan dengan langkah berikut: membuat model sistem pengujian (bagan kerja), membuat rumus atau formula perhitungan (identifikasi besaran yang akan diukur), mengidentifikasi sumber-sumber ketidakpastian dan membuat daftar dari semua faktor yang dapat memberikan kontribusi kesalahan terhadap hasil akhir pengujian dalam bentuk diagram fishbone, mengelompokkan faktor-faktor tersebut dalam komponen ketidakpastian tipe A dan tipe B, menghitung estimasi masing-masing ketidakpastian baku sebagai nilai yang ekuivalen dengan simpangan baku (SD) berdasarkan kategori komponen ketidakpastian, menggabungkan komponen ketidakpastian baku (μ) untuk menghasilkan ketidakpastian hasil uji secara keseluruhan menjadi

ketidakpastian gabungan, menghitung ketidakpastian diperluas (U), melaporkan nilai ketidakpastian diperluas ke dalam laporan hasil uji. Pada penetapan P_{PO₄} dalam sampel air metode asam askorbat yang dilakukan, sumber ketidakpastian dalam bentuk diagram *fishbone* dapat dilihat pada Gambar 3. berikut:



Gambar 3. Diagram *Fishbone* Penetapan Kadar P_{PO₄} Dalam Sampel Air Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri.

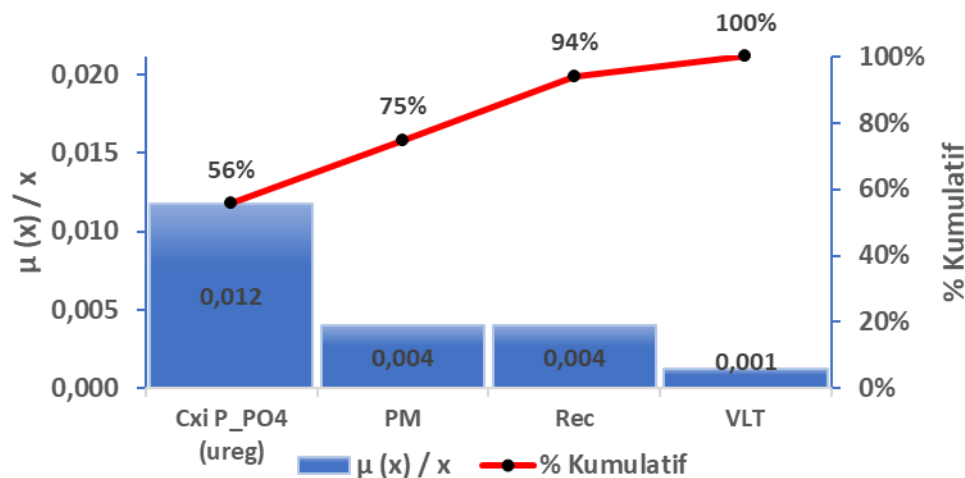
Diagram *fishbone* menunjukkan sumber ketidakpastian penetapan P_{PO₄} dalam sampel air metode asam askorbat terdiri dari ketidakpastian baku tipe A dan tipe B. Ketidakpastian baku asal volume pemipetan sampel merupakan komponen ketidakpastian tipe B. Ketidakpastian baku asal regresi, presisi metode, dan akurasi metode merupakan komponen ketidakpastian tipe A. Masing-masing kumber ketidakpastian baku dihitung, kemudian digabungkan menjadi ketidakpastian gabungan seperti dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Kuantifikasi Ketidakpastian Penetapan Kadar P_{PO₄} Dalam Sampel Air Metode Asam Askorbat Secara Spektrofotometri

Simbol (x)	Uraian	Nilai (x)	Satuan	$\mu(x)$	$\mu(x)/x$	$(\mu(x)/x)^2$
Cxi P _{PO₄} (ureg)	Konsentrasi Cu yang terukur di alat	0,40	mg/L	0,00475	0,011783	0,0001388
Vp	Volume pipet (sampel)	10	mL	0,01252	0,001252	0,0000015
PM	presisi metode	0,403	mg/L	0,00163	0,004055	0,0000164
Rec	recovery metode	101	%	0,40845	0,004049	0,0000163
$\mu C P = \mu_{gab}$						0,005
U = 2 x μ_{gab}						0,01

Nilai ketidakpastian gabungan (μ_{gab}) penetapan kadar P_{PO₄} dalam sampel air pada konsentrasi sampel 0,40 mg/L diperoleh sebesar 0,005 mg/L. Nilai μ_{gab} ini kemudian diperluas dengan dikalikan nilai k = 2 pada tingkat kepercayaan 95%, hal ini untuk memperhitungkan kesalahan yang mungkin tidak terhitung dalam perhitungan estimasi ketidakpastian pengukuran yang dilakukan. Hasil P_{PO₄} dalam sampel air dapat dilaporkan sebesar (0,40 ± 0,01) mg/L, dengan nilai ketidakpastian relative sebesar 2,5%. Nilai ini memenuhi syarat nilai ketidakpastian relatif yang dipersyaratkan laboratorium yaitu nilai

ketidakpastian relatif < 10% penetapan kadar Kontribusi kesalahan dari masing-masing sumber ketidakpastian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Pareto Kontribusi Ketidakpastian Relatif Penetapan Kadar P_PO₄ dalam Sampel Air.

Gambar 4. menunjukkan kontribusi terbesar dalam nilai ketidakpastian penetapan kadar P_PO₄ dalam sampel air adalah ketidakpastian yang bersumber dari kurva kalibrasi, yaitu 56% dari total nilai ketidakpastian. Nilai ketidakpastian baku relatif asal kurva kalibrasi diperoleh sebesar 0,012 mg/L.

KESIMPULAN

Hasil uji kinerja metode asam askorbat dalam penetapan kadar P_PO₄ dalam Air Permukaan Secara Spektrofotometri dengan modifikasi volume sampel 50 mL menjadi 10 mL menunjukkan bahwa hasil uji linearitas, presisi, akurasi, limit deteksi instrumen, estimasi ketidakpastian pengujian telah memenuhi syarat keberterimaan yang telah ditentukan.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Politeknik AKA Bogor atas sarana dan prasarana dalam menjang penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standarisasi Nasional. 2017. Implementasi SNI ISO/IEC 17025:2017 : Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Eurachem Guide. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. 2nd Edition. ISBN 978-91-87461-59-0. www.eurachem.org
- Filippelli Gabriel M. The Global Phosphorus Cycle. Department of Geology Indiana University - Purdue University Indianapolis 723 West Michigan Street Indianapolis, Indiana 46202.
- Golterman, Han L. 2004. The Chemistry of Phosphate and Nitrogen Compounds in Sediments. Kluwer Academic Publishers.

- Harris Graham P. 2001. Biogeochemistry of Nitrogen and Phosphorus in Australia catchments, rivers and estuaries; effect of land use and flow regulation and comparisons with global patterns. *Marine Freshwater*. 52. 139-49.
- Hadi, A., Asiah, & A. Prajanti. 2018. *Statistika Pengendalian Mutu Internal : Mendukung Penerapan ISO/IEC 17025:2017*. IPB Press. Bogor.
- IANZ (International Accreditation New Zealand). 2020. *Technical Guide Laboratory Balances – Calibration Requirements (AS TG 2)*. New Zealand.
- Manahan, S. E. 2005. *Environmental Chemistry, Eighth Edition*. Taylor & Francis. England.
- McKelvie ID. 1999. Phosphate. *Handbook of Water Analysis*. New York, Marcel Dekker, Inc: 273-295.
- NATIONAL ASSOCIATION OF TESTING AUTHORITIES (NATA). 2018. *Guidelines for the Validation and Verification of Quantitative and Qualitative Test Methods*. National Association of Testing Authorities. Australia.
- SNI SNI 06-6989.31-2005 tentang Air dan Air Limbah- Bagian 31 : Cara Uji Kadar Fosfat dengan Spektrofotometer Secara Asam Askorbat.
- Tomáš Pluháček, Radka Pechancová, David Milde, Ricardo J.N. Bettencourt da Silva, Bottom-up uncertainty evaluation of complex measurements from correlated performance data: Determination of total Cr in yeast by ICP-MS after acid digestion, *Food Chemistry*, Volume 404, Part A, 2023, 134466, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134466>.
- <http://water.epa.gov/type/rsl/monitoring/vms56.cfm> diakses pada Oktober 2022.