

## PENENTUAN BATAS DETEKSI DAN BATAS KUANTITASI METODE PENGUKURAN FOSFAT ( $PO_4\text{-P}$ ) DENGAN SPEKTROFOTOMETER SECARA ASAM ASKORBAT

Puji Purnama<sup>1</sup> dan Dyah Ika Kusumaningtyas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Calon Teknisi Litkayasa

<sup>2</sup>Teknisi Litkayasa Pelaksana Lanjutan

Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumber Daya Ikan-Jatiluhur

Teregistrasi I tanggal: 26 Juni 2014; Diterima setelah perbaikan tanggal: 17 Juli 2014;

Disetujui terbit tanggal: 18 Juli 2014

### PENDAHULUAN

Fosfat atau sering disebut gugus fosfat adalah sebuah ion poliatomik atau radikal terdiri dari satu atom fosforus dan empat oksigen ( $PO_4^{3-}$ ). Fosfor merupakan salah satu bahan kimia yang sangat penting bagi makhluk hidup. Fosfor terdapat di alam dalam dua bentuk yaitu senyawa fosfat organik dan senyawa fosfat anorganik. Senyawa fosfat organik terdapat pada tumbuhan dan hewan, sedangkan senyawa fosfat anorganik terdapat pada air dan tanah dimana fosfat ini terlarut di air tanah maupun air laut yang terkikis dan mengendap di sedimen (Anonim, 2013).

Fosfor (P) merupakan nutrisi penting dalam reaksi biokimia pada tubuh makhluk hidup (Westheimer, 1987 dalam Rumhayati, 2010). Sumber fosfor di perairan adalah 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 peledakan pertumbuhan alga (eutrofikasi) dengan efek samping menurunnya konsentrasi oksigen dalam badan air sehingga menyebabkan kematian biota air.

Penentuan fosfat dapat ditentukan dengan berbagai macam metode diantaranya dengan menggunakan metode spektrofotometer secara asam askorbat. Prinsip metode penentuannya adalah pembentukan kompleks biru-molibdenum yang diukur pada panjang gelombang sinar tampak. Ammonium molibdat dan kalium antimonil tartrat bereaksi dalam medium asam dengan fosfat membentuk kompleks antimonil fosfomolibdat yang akan direduksi menjadi kompleks biru-molibdenum (*molybdenum blue*) oleh asam askorbat (Anonim, 2005). Metode tersebut mempunyai batas deteksi terkecil.

Batas deteksi / *Limit of Detection* adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi/*Limit of Quantification* merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Riyadi, 2009).

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

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

### POKOK DAN BAHASAN

#### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2014 di Laboratorium Kimia Air pada Balai Penelitian Pemulihan Dan Konservasi Sumber Daya Ikan, 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).

#### Bahan & Alat

Bahan dan alat yang digunakan dalam pengukuran batas deteksi dan batas kuantitasi dengan spektrofotometer secara asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 1.

-----  
Korespondensi:

Balai Penelitian Pemulihan dan Konservasi Sumberdaya Ikan

E-mail : -

Tabel 1. Bahan dan alat

No	Nama alat/Bahan	Kegunaan
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	Erlemeyer (100ml)	Tempat untuk mencampurkan sampel dan pereaksi
6	Water steril	Sebagai blanko atau pelarut
7	Ball pipet	Menghisap larutan menggunakan pipet
8	Kuvet kaca	Tempat larutan yang akan diukur dengan spektrofotometer
9	Hablur kalium dihidrogen fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Bahan standar
10	Asam sulfat (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) 5N	Pereaksi
11	Ammonium Molibdate	Pereaksi
12	Kalium antimonil ttrat	Pereaksi
13	Asam askorbat	Pereaksi
14	Penolphtaelin	Pereaksi

**Metode Analisa**

Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi dengan menggunakan perhitungan di bawah ini:

$$LOD = \text{Konsentrasi blanko rata-rata} + (k \times S)$$

dimana

$$k = 3$$

S = simpangan baku respon analitik dari blanko

$$\text{Konsentrasi blanko rata-rata} = \frac{\text{Absorbansi-a}}{b} \text{ (pada persamaan garis } y = a+bx)$$

$$LOQ = \text{Konsentrasi blanko rata-rata} + (k \times S)$$

dimana

$$k = 5; 10; 15 \text{ dst}$$

S = simpangan baku respon analitik dari blanko

$$\text{Konsentrasi blanko rata-rata} = \frac{\text{Absorbansi-a}}{b} \text{ (pada persamaan garis } y = a+bx)$$

**Prosedur Kerja**

1. Pembuatan larutan induk, larutan baku, dan larutan kerja fosfat

- a. Pembuatan Larutan Induk Fosfat, 500 mg/L PO<sub>4</sub>-P
  - Menimbang serbuk KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (jika kemurnian 100%) sebanyak 2,195 gram
  - Memasukkannya kedalam labu ukur 1000 mL
  - Melarutkannya dengan air bebas fosfat sampai tanda batas dan homogenkan (kocok).
- b. Pembuatan Larutan Baku Fosfat, 10 mg/L PO<sub>4</sub>-P
  - Memipet larutan induk fosfat sebanyak 2mL
  - Memasukkannya kedalam labu ukur 100 mL

- Melarutkannya dengan air bebas fosfat sampai tanda batas dan homogenkan (kocok).
- c. Pembuatan Larutan Kerja Fosfat (0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0 mg/L PO<sub>4</sub>-P)
  - Memipet 0,0 mL; 5 mL; 10 mL; 20 mL; dan 25 mL larutan baku fosfat 10 mg/L PO<sub>4</sub>-P masing-masing ke dalam labu ukur 250 mL.
  - Melarutkannya dengan air bebas fosfat sampai tanda batas dan homogenkan(kocok).
- 2. Pembuatan kurva kalibrasi
  - a. Mengoptimalkan spektrofotometer sesuai petunjuk penggunaan alat.
  - b. Memipet masing-masing larutan kerja fosfat sebanyak 50 mL ke dalam erlemeyer.
  - c. Menambahkan 1 tetes indikator PP pada larutan tersebut, jika berwarna merah tambahkan tetes demi tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N sampai warna merah hilang
  - d. Menambahkan 8 mL larutan campuran pereaksi ke dalam larutan tersebut dan aduk sampai homogen.
  - e. Mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 880 nm dalam kisaran waktu 10 sampai 30 menit.
  - f. Mencatat absorbansinya pada formulir kerja.
  - g. Membuat kurva kalibrasinya.
  - h. Linieritas dikatakan memenuhi kriteria jika  $r > 0,995$
  - i. Melakukan 1 kali pengulangan (untuk meningkatkan keakuratan pengukuran).
- 3. Penentuan batas deteksi metode (*limit of detection/LOD*)

- a. Memipet 50 mL air bebas fosfat
- b. Menambahkan 1 tetes indikator PP ke dalam larutan tersebut, jika berwarna merah tambahkan tetes demi tetes  $H_2SO_4$  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
- g. Melakukan 7 kali pengulangan
- h. Menghitung standar deviasinya
- i. Menghitung nilai LOD
- d. Menambahkan 8 mL larutan campuran ke dalam larutan tersebut dan aduk hingga homogennya
- e. Mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 880 nm dalam kisaran waktu 10 sampai 30 menit
- f. Mencatat absorbansinya pada formulir kerja
- g. Menentukan konsentrasi fosfat yang terukur berdasarkan kurva kalibrasi standar
- h. Melakukan 7 kali pengulangan
- i. Jika  $\%RSD < 2/3$  CV Horwitz maka LOQ diterima
- j. Jika  $\%RSD > 2/3$  CV Horwitz maka naikan konsentrasi larutan fosfat
- k. Melakukan analisa larutan fosfat dengan konsentrasi sebesar Konsentrasi blanko rata-rata + 5 S; + 10 S; + 15 S dan seterusnya sampai didapatkan nilai  $\%RSD < 2/3$  CV Horwitz

$$LOD = \text{konsentrasi blanko fosfat rata-rata} + 3 S$$

4. Penentuan batas kuantitasi metode (*limit of quantitation/LOQ*)
  - a. Membuat larutan Fosfat dengan konsentrasi sebesar konsentrasi blanko fospat rata-rata + 5 SD (dengan cara pengenceran larutan standar)
  - b. Memipet larutan tersebut sebanyak 50 mL dan memasukkannya kedalam erlenmeyer
  - c. Menambahkan 1 tetes indikator PP kedalam larutan tersebut, jika berwarna merah tambahkan tetes demi tetes  $H_2SO_4$  5N sampai warna merah hilang



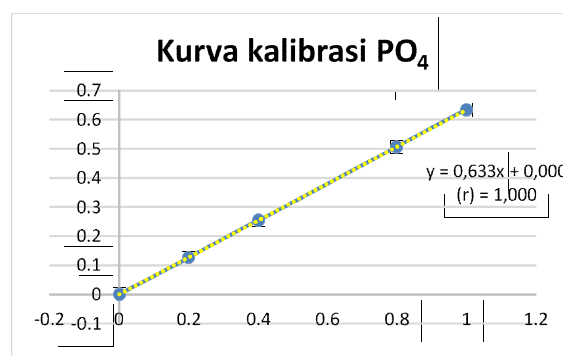
Gambar 1. Larutan deret standar fosfat dari konsentrasi rendah ke tinggi (kiri ke kanan)

Hasil penelitian menunjukkan nilai batas deteksi metode sebesar 0,003 mg/L. Konsentrasi fosfat dibawah 0,003 mg/L tidak dapat dideteksi dengan metode ini. Penentuan LOQ dilakukan dengan cara coba-coba pada larutan dengan konsentrasi fosfat 0,005 mg/L (konsentrasi blanko rata-rata + 5 S). Pada konsentrasi tersebut masih didapatkan nilai fosfat yang terkuantitasi sehingga tidak perlu dilakukan pada

### Hasil dan Bahasaan

Konsentrasi dan absorbansi menunjukkan 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) sebesar 1 (ideal) dengan persamaan regresi  $y = 0,633x + 0,000$ . Persamaan regresi yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk penentuan batas deteksi/LOD dan batas kuantisasi/LOQ metode. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva kalibrasi fosfat

konsentrasi fosfat yang lebih tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan nilai % RSD lebih kecil daripada 2/3 CV Horwitz. Nilai % RSD yang didapatkan adalah 9,231 dan 2/3 CV Horwitz sebesar 21,915. Batas kuantisasi/LOQ metode yang didapatkan dari penelitian adalah sebesar 0,005 mg/L. Hasil Pengukuran LOD dan LOQ disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Hasil pengukuran LOD

No	Abs	C (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 =		0,003

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 diukur = Konsentrasi blanko rata-rata + 5 S = 0,005 mg/L
6	0,005	0,007911	
7	0,006	0,009494	
	S	0,000772	
	%RSD	9,231	
	CV horwitz	32,9	
	2/3 CV Horwitz	21,915	

**KESIMPULAN**

- Nilai batas deteksi metode sebesar 0,003 mg/L. Konsentrasi fosfat dibawah 0,00321 mg/L tidak dapat dideteksi dengan metode ini.
- Batas kuantisasi/LOQ adalah sebesar 0,005 mg/L. Pada konsentrasi tersebut masih didapatkan nilai fosfat yang terkuantitasi

*spektrofotometer secara asam askorbat*). BSN. Jakarta

Anonim. 2013. *Ortofosfat*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Ortofosfat>. Diakses pada tanggal 02 Mei 2014.

Riyadi. W. 2009. *Validasi Metode Analisis*. [http://www.chem-is-try.org/artikel\\_kimia/kimia\\_analisis/validasi-metode-analisis/](http://www.chem-is-try.org/artikel_kimia/kimia_analisis/validasi-metode-analisis/). Diakses pada tanggal 02 Mei 2014.

**DAFTAR PUSTAKA**

Anonim. 2005. *Standar Methods for the Examination of Water & Wastewater: American Public Health and Association (APHA)*. Hal 4-153 s/d 4-155

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

Anonim. 2005. *Metode pengukuran yang digunakan adalah SNI 06-6989.31-2005 (Air dan Air Limbah-Bagian 31 : Cara uji kadar fosfat dengan*