

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

UJI LINIERITAS KURVA KALIBRASI DERET STANDAR N-NH₃ PADA RENTANG KONSENTRASI YANG BERBEDA SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Dina Sri Wardhani dan Inna Nurbayanti

Balai Riset Pemuliaan Ikan

Jl. Raya 2 Sukamandi, Patokbeusi, Subang, Jawa Barat 41263

E-mail: siepelayananteknis.brpl@gmail.com

ABSTRAK

Pada kegiatan ini telah dilakukan uji linieritas kurva kalibrasi deret standar N-NH₃ pada rentang konsentrasi yang berbeda yang diukur dengan spektrofotometer. Pengujian rutin yang melibatkan sampel dan standar, akurasi terlihat dari presisi dan linieritas pengukuran, yang dapat ditentukan dengan membuat kurva linieritas dari beberapa konsentrasi larutan standar. Pengujian linieritas spektrofotometer UV/Vis bertujuan menentukan hubungan linier antara konsentrasi dan sinyal instrumen pada serapan normal, deviasi serapan sinyal pada absorbansi maksimum, dan pengaruh derau pada absorbansi minimum. Uji ini secara visual lebih bersifat subjektif karena beda pengamat akan memberikan kesimpulan yang berbeda terhadap suatu linearitas, untuk menghindari hal tersebut maka digunakan uji linearitas secara statistik dengan mencari nilai F_{hitung} yang dibandingkan dengan nilai F_{tabel} pada tingkat kepercayaan 99%.

KATA KUNCI: deret standar; kurva kalibrasi; linieritas; spektrofotometer

PENDAHULUAN

Linieritas adalah kemampuan metode analisis memberikan respons secara langsung sesuai dengan konsentrasi analit dalam contoh pada kisaran konsentrasi tertentu (AOAC, 1998). Linieritas diperoleh dari persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara respons analit dan konsentrasi. Fungsi regresi linier berupa $y = a + bx$ dengan nilai $r \geq 0,97$ dengan intersep lebih kecil atau sama dengan batas deteksi (SNI 06-6989.30-2005, 2005). Nilai intersep (a) menyatakan pengaruh matriks. Semakin besar nilainya, maka semakin besar pula pengaruh matriks terhadap pengukuran sampel. Nilai kemiringan/slope (b) menunjukkan sensitivitas suatu metode, yaitu pengaruh perubahan konsentrasi terhadap sinyal yang dihasilkan. Semakin besar nilainya, maka semakin besar pula nilai sensitivitas suatu metode (Chan *et al.*, 2004). Nilai kadar yang akan ditentukan (x) adalah konsentrasi analit yang terukur.

Penentuan konsentrasi analit dalam sampel secara kuantitatif dengan menggunakan instrumentasi kimia secara umum dapat dilakukan melalui kurva kalibrasi yang memiliki linearitas yang memenuhi batas keberterimaan. Kurva kalibrasi merupakan grafik yang membentuk garis lurus (linear) yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan kerja termasuk blanko dengan respons yang proporsional dari instrumen yang digunakan (Hadi, 2014).

Pengujian rutin yang melibatkan sampel dan standar, akurasi terlihat dari presisi dan linieritas pengukuran, yang dapat ditentukan dengan membuat kurva linieritas dari beberapa konsentrasi larutan standar. Pengujian linieritas spektrofotometer UV/Vis bertujuan menentukan hubungan linier antara konsentrasi dan sinyal instrumen pada serapan normal, deviasi serapan sinyal pada absorbansi maksimum, dan pengaruh derau pada absorbansi minimum (Chan *et al.*, 2004).

Tujuan kegiatan ini adalah untuk memberikan jaminan mutu bahwa hubungan antara konsentrasi dengan respons instrumen menghasilkan suatu garis yang linier. Uji untuk membuktikannya yang paling mudah adalah memvisualisasikan data kalibrasi dalam grafik dan menghubungkan garis linier antar data yang ada.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam kegiatan ini adalah labu ukur 100 mL, tabung reaksi amonia, kuvet, dan spektrofotometer Hitachi UH 5300.

Bahan yang digunakan dalam kegiatan ini adalah akuademineralisasi, larutan fenol, larutan natrium nitroprusida, dan larutan pengoksidasi.

Pembuatan Deret Standar

A. Pembuatan larutan standar N-NH₃ 100 mg/L

Sekitar 12,9 mL amonium standar *solution traceable to SRM from NIST NH₄Cl in H₂O 1,000 mg/L NH₄ CertiPUR®* dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuademineralisasi sampai dengan tanda tera dan dihomogenkan.

B. Pembuatan larutan standar N-NH₃ 10 mg/L

Sekitar 10 mL larutan standar N-NH₃ 100 mg/L dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuademineralisasi sampai dengan tanda tera dan dihomogenkan.

C. Pembuatan deret standar N-NH₃ 0,00 sampai dengan 0,5 mg/L

Sekitar 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; dan 5,0 mL larutan standar N-NH₃ 10 mg/L, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuademineralisasi sampai dengan tanda tera dan dihomogenkan sehingga mendapatkan konsentrasi deret standar 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; dan 0,5 mg/L.

D. Pembuatan deret standar N-NH₃ 0,00 sampai dengan 3,2 mg/L N-NH₃

Sekitar 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 8,0; 10,0; 11,0; 12,0; 13,0; 15,0; 18,0; 20,0; 21,0; 22,0; 23,0; 25,0; 28,0; 3,0; 31,0; dan 32,0 mL larutan standar N-NH₃ 10 mg/L, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuademineralisasi sampai dengan tanda tera dan dihomogenkan sehingga mendapatkan konsentrasi deret standar 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 1,1; 1,2; 1,3; 1,5; 1,8; 2,0; 2,1; 2,2; 2,3; 2,5; 2,8; 3,0; 3,1; dan 3,2 mg/L.

Uji Linieritas

Masing-masing deret standar, baik deret standar pada rentang 0,0 sampai dengan 0,5 mg/L maupun 0,0 sampai dengan 3,2 mg/L, dimasukkan ke dalam tabung reaksi amonia, kemudian masing-masing ditambahkan 1 mL larutan fenol, 1 mL larutan natrium nitroprusida dan 2,5 mL larutan pengoksida. Masing-masing deret standar diukur absorbansinya pada panjang gelombang 635 nm.

Perhitungan

Berdasarkan hasil pengukuran, masing-masing deret standar, baik deret standar pada rentang 0,0 sampai dengan 0,5 mg/L maupun 0,0 sampai dengan 3,2 mg/L dibuat kurva kalibrasinya dengan sumbu x sebagai konsentrasi deret standar (mg/L) dan sumbu y sebagai nilai absorbansinya. Dari kurva tersebut akan diperoleh persamaan $y = a + bx$ dan nilai r-nya. Uji

linieritas dapat dibuktikan dengan mencari F_{hitung} yang dibandingkan dengan F_{tabel} dengan tingkat kepercayaan 99%. Untuk mengevaluasi linearitas yang ada maka F_{hitung} ditentukan melalui persamaan sebagai berikut:

di mana: SD_1^2 adalah standar deviasi deret yang pertama dan SD_2^2 adalah standar deviasi deret standar kedua. Nilai F_{hitung} yang diperoleh dibandingkan dengan F_{tabel} dengan kesimpulan sebagai berikut:

- jika $F_{hitung} < F_{tabel}$: garis yang terbentuk adalah regresi linear
- jika $F_{hitung} > F_{tabel}$: garis yang terbentuk adalah regresi non-linear

Untuk mendapatkan nilai F_{tabel} maka derajat kebebasan untuk SD_1 ($df = n-1$) dan SD_2 ($df = n-3$) dengan tingkat kepercayaan 99% maka $F_{tabel} = F_{(0,99; n-1; n-3)}$

HASIL DAN BAHASAN

Hasil kegiatan uji linieritas kurva kalibrasi deret standar N-NH₃ pada rentang konsentrasi yang berbeda yang diukur dengan spektrofotometer dapat dilihat data pada Tabel 1 dan 2.

Berdasarkan Tabel 1 dan 2, maka dicari nilai F_{hitung} dengan persamaan (1) sebesar 0,034 dengan $F_{tabel(0,01; 4,8)}$ sebesar 4,58 sehingga nilai $F_{hitung} < F_{tabel}$ menunjukkan bahwa kedua data tersebut tidak berbeda secara signifikan, serta garis yang terbentuk adalah regresi linier.

Secara ideal, ketika korelasi positif sempurna ($r = 1$) tanpa bias maka intersep $a = 0$ dan kemiringan $b = 1$ maka kondisi ini disebut garis 1:1. Namun, jika intersep $a \neq 1$ maka hal ini berarti telah terjadi bias karena adanya kesalahan sistematis (*error systematic*) antara konsentrasi analit dan respons instrumen yang diberikan. Bila kemiringan $b \neq 1$ maka telah terjadi respons secara proporsional dari instrumen terhadap konsentrasi analit yang diberikan. Garis yang terbentuk tersebut mutlak merupakan garis regresi linier seperti yang disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, diperoleh nilai r untuk deret standar N-NH₃ dengan konsentrasi 0,0-0,5 mg/L sebesar 0,9996 dengan nilai intersep -0,0008 dan kemiringan 1,0025 dan untuk deret standar N-NH₃ 0,0-3,2 mg/L sebesar 0,9916 dengan nilai intersep -0,0012 dan kemiringan 0,9365. Simpulan dari Gambar 1 disajikan pada Tabel 3.

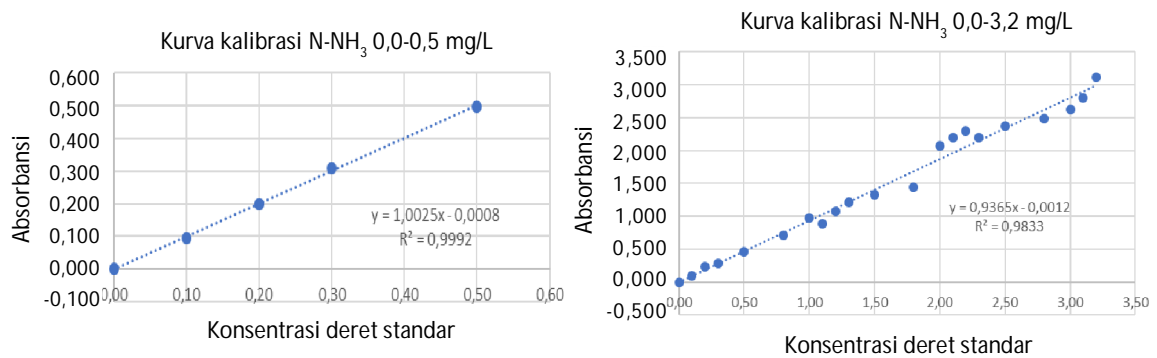
Sesuai dengan Tabel 3, maka r dari kedua rentang deret standar N-NH₃ tersebut memenuhi syarat keberterimaan, yaitu $> 0,97$.

Tabel 1. Nilai konsentrasi terukur dari deret standar N-NH₃ 0,0-0,5 mg/L

Konsentrasi deret standar N-NH ₃ (mg/L)	Absorbansi	Konsentrasi terukur (mg/L)
0,00	0,000	0,0008
0,10	0,095	0,0951
0,20	0,200	0,1998
0,30	0,309	0,3085
0,50	0,497	0,4961
SD		0,1924

Tabel 2. Nilai konsentrasi terukur dari deret standar N-NH₃ 0,0-3,2 mg/L

Konsentrasi deret standar N-NH ₃ (mg/L)	Absorbansi	Konsentrasi terukur (mg/L)
0,00	0,000	0,0013
0,10	0,099	0,1065
0,20	0,229	0,2458
0,30	0,290	0,3109
0,50	0,459	0,4909
0,80	0,714	0,7632
1,00	0,977	10,440
1,10	0,892	0,9538
1,20	1,075	11,486
1,30	1,211	12,944
1,50	1,325	14,161
1,80	1,447	15,459
2,00	2,076	22,180
2,10	2,201	23,515
2,20	2,291	24,471
2,30	2,191	23,408
2,50	2,377	25,389
2,80	2,487	26,564
3,00	2,622	28,005
3,10	2,805	29,959
3,20	3,117	33,296
SD		10,452



Gambar 1. Kurva kalibrasi N-NH₃ 0,0-0,5 mg/L dan 0,0-3,2 mg/L.

Tabel 3. Simpulan untuk regresi linieritas N-NH₃

Parameter	Deret standar N-NH ₃ (0,0 – 0,5 mg/L)	Deret standar N-NH ₃ (0,0 – 3,2 mg/L)	Kriteria keberterimaan
Kemiringan	10,025	0,9365	r ≥ 0,97
Intersep	-0,0008	-0,0012	
Koefisien korelasi (r)	0,9996	0,9916	
Simpulan	Diterima	Diterima	

KESIMPULAN

Hasil uji linieritas kurva kalibrasi deret standar N-NH₃ pada rentang konsentrasi yang berbeda yang diukur dengan spektrofotometer dapat disimpulkan bahwa kedua rentang konsentrasi deret standar tersebut memenuhi syarat keberterimaan dengan nilai $r > 0,97$ dan garis yang terbentuk adalah regresi linier.

DAFTAR ACUAN

Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. (1998). AOAC perr-verified methods program. Arlington. AOAC International, 10 pp.

Chan, C.C., Lee, Y.C., Lam, H., & Zhang, X.-M. (2004). Analytical method validation and instrument performance verification. New Jersey: Willey & Sons, 320 pp.

Hadi, A. (2014). Linearitas kurva kalibrasi metode pengujian parameter kualitas lingkungan. <https://www.infolabling.com/2014/03/linearitas-kurva-kalibrasi-parameter.html#.XKsEPJgzblU>. Diakses tanggal 08 April 2019.

SNI. (2005). SNI 06-6989.30-2005. Air dan air limbah; Bagian 30: Cara uji kadar amonia dengan spektrofotometer secara fenat. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; ICS13.060.01, hlm. 1-11.