

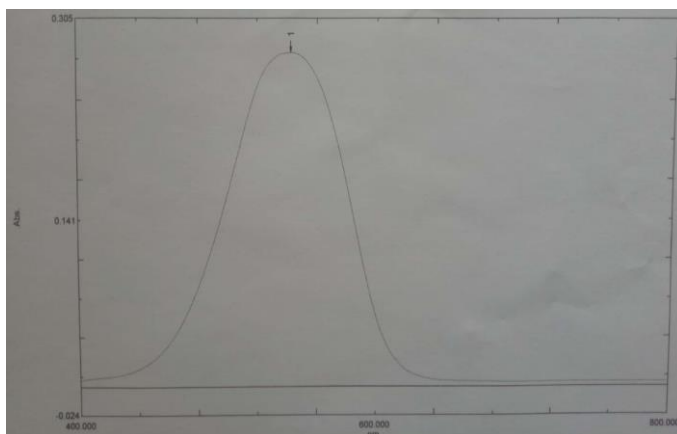
Bab VI. Pembahasan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bayam hijau dan bayam merah, diambil dari salah satu pasar tradisional di Bandung Timur. Sebelum dilakukan analisis kadar nitrit pada tanaman bayam hijau dan bayam merah, terlebih dahulu dilakukan determinasi tanaman di Institut Teknologi Bandung (ITB). Determinasi tanaman bertujuan untuk membuktikan suatu identitas tanaman tersebut bahwa benar tanaman yang digunakan adalah bayam hijau (*Amaranthus hybridus L*) dan bayam merah (*Amaranthus tricolor L*). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran halaman 36.

Dilakukan preparasi sampel untuk mempermudah analisis, dalam preparasi sampel bayam hijau dan bayam merah ada dua perlakuan yaitu sampel dalam keadaan segar atau tanpa perebusan dan sampel dengan dilakukan perebusan. Dalam proses preparasi sampel dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut aquadest.

Metode yang digunakan untuk analisis kadar nitrit adalah spektrofotometri visibel, sampel yang sebelumnya sudah dipreparasi, direaksikan dengan pereaksi Griess (reagensia asam sulfanilat dan α -naftilamina diamin dihidroklorida). Prinsip reaksi Griess adalah pembentukan garam diazotasi asam sulfanilat oleh asam nitrit, yang diikuti dengan reaksi kopling dengan α -naftilamina membentuk suatu zat pewarna azo yang merah.

Penentuan panjang gelombang maksimum standar nitrit (NO_2^-) menggunakan baku natrium nitrit (NaNO_2) dengan konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ ditambah dengan HCl dan pereaksi Griess, kemudian discan pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Hasil yang diperoleh dari penentuan panjang gelombang maksimum yaitu 542 nm. Berikut adalah hasil spektrum panjang gelombang maksimum :



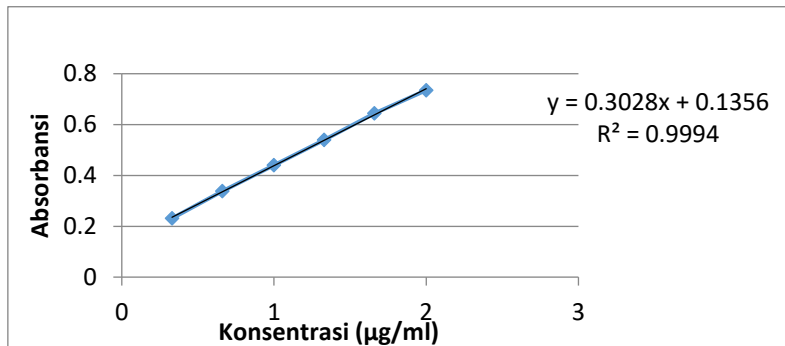
Gambar VI.3 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum nitrit (NO_2^-) dengan pereaksi Griess

Penentuan kurva kalibrasi nitrit dilakukan dengan mengukur masing-masing konsentrasi seri larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 3 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, dan 6 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan larutan baku nitrit yaitu natrium nitrit (NaNO_2). Hasil kurva kalibrasi yang diperoleh kemudian dilakukan perhitungan secara statistic, didapatkan persamaan garis regresi linear yaitu $y=bx+a$ ($y=3028x+0,1356$) dimana y adalah hasil dari pengukuran berupa absorbansi, b adalah nilai slope, x adalah konsentrasi analit dan a adalah nilai intersep, dan

koefisien korelasi $r = 0,9994$. Nilai koefisien korelasi yang didapat sesuai dengan persyaratan yaitu r harus mendekati 1 atau 1, pada kurva kalibrasi nitrit didapatkan hasil yang baik yaitu membentuk garis lurus bahwa adanya hubungan antara konsentrasi dan absorbansi.

Tabel VI.4 Data Kuva Kalibrasi Nitrit (NO_2^-)

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
1	1	0,231
2	2	0,338
3	3	0,44
4	4	0,539
5	5	0,644
6	6	0,735



Gambar VI.4 Kurva Kalibrasi Nitrit (NO_2^-)

Validasi metode analisis dilakukan untuk memastikan bahwa parameter-parameter yang digunakan dalam penelitian memenuhi syarat yang ditetapkan dan menjamin hasil yang akurat dan dapat dipercaya. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini meliputi linearitas, batas deteksi (BD), batas kuantisasi (BK), presisi dan akurasi. Dari hasil data linearitas kurva kalibrasi larutan baku nitrit (NO_2^-) dilakukan perhitungan batas deteksi dan batas kuantisasi, dimana batas deteksi merupakan konsentrasi terendah yang dapat dideteksi dan hasil nilai yang diperoleh yaitu $0,0499 \mu\text{g/mL}$, batas deteksi yang didapatkan bahwa nilai tersebut adalah kadar terendah yang dapat teranalisis dalam sampel. Batas kuantisasi merupakan kadar analit terendah yang dapat dikuantitatif, dan hasil nilai yang diperoleh yaitu $0,1664 \mu\text{g/mL}$. Selanjutnya nilai koefisien variasi dari fungsi (V_{x0}) diperoleh hasil nilai $0,433$ bahwa hasil yang diperoleh memenuhi syarat yaitu <2 , sehingga data linearitas dapat digunakan dalam analisis.

Tabel VI.5 Parameter Linearitas Nitrit (NO_2^-)

Parameter	Hasil	Syarat
Persamaan regresi	$y=0,3028x+0,1356$	
Slop (nilai b)	0,3028	
Intersep	0,1356	
Nilai r	0,9994	Mendekati 1 atau -1
Syx	0,0050	
BK	$0,1664 \mu\text{g/mL}$	
BD	$0,0499 \mu\text{g/mL}$	
V_{x0}	1,4302	$<2 \%$

Akurasi merupakan ukuran ketepatan metode analisis atau kedekatan nilai hasil uji yang diperoleh dengan nilai yang sebenarnya. Dinyatakan dalam persen perolehan kembali analit pada penentuan kadar sampel yang mengandung analit dalam jumlah yang diketahui. Akurasi dilakukan dengan metode adisi dimana sejumlah larutan baku nitrit ditambahkan pada sampel. Larutan baku yang ditambahkan sebanyak 3 seri konsentrasi yang berbeda yaitu 0,3 µg/mL, 0,5 µg/mL dan 0,7 µg/mL dan masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Hasil perolehan kembali (% recovery) yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu 80-120% (Harmita,2004).

Tabel VI.6 Data Hasil Akurasi Nitrit (NO_2^-)

Konsentrasi teoritis (µg/mL)	Konsentrasi pengukuran (µg/mL)	% recovery	Rata-rata	SD
0,3	0,4438	88,433	88,800%	1,6815
	0,4504	90,635		
	0,4405	87,333		
0,5	0,6585	95,992	95,332%	0,6605
	0,6519	94,671		
	0,6552	95,332		
0,7	0,9326	107,724	107,410%	0,2723
	0,9293	107,252		
	0,9293	107,252		

Selanjutnya dilakukan parameter presisi, presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis, bertujuan untuk mengetahui ukuran ketepatan atau kesesuaian hasil dari analisis pada kondisi yang sama dan dilakukan berulang-ulang (Harmita,2004). Pengujian presisi

menggunakan metode adisi dilakukan secara *interday* yaitu dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali selama 3 hari dengan konsentrasi yang sama yaitu 6 µg/ml. Dari hasil yang diperoleh didapatkan nilai presisi dari koefisien variasinya (KV) menunjukkan bahwa tidak melebihi syarat yang ditentukan yaitu <2, artinya bahwa metode yang digunakan memiliki presisi atau ketepatan yang baik. Hasil penentuan presisi nitrit dapat dilihat pada tabel dibawah

Tabel VI.7 Data Hasil Presisi Interday Nitrit (NO₂⁻)

No	Konsentrasi(µg/ mL)			
	Konse ntrasi (µg/m L)	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1	0,7	0,9756	0,9822	0,9954
2		0,9657	0,9822	0,9954
3		0,9557	1,0119	0,9789
4		0,9855	1,0086	0,9723
5		0,9690	0,9690	0,9756
6		0,9425	0,9789	0,9855
Rata- rata		0,9657	0,9888	0,9838
SD		0,0151	0,0173	0,0100
% KV		1,5597	1,7547	1,0126

Tabel VI.8 Data Hasil Presisi Ekstraday Nitrit (NO_2^-)

Hari ke-	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
1	0,9657
2	0,9888
3	0,9838
Rata-rata	0,9794
SD	0,01215
% KV	0,24085

Selanjutnya dilakukan penetapan kadar nitrit pada masing-masing sampel bayam hijau dan merah dengan perlakuan yang berbeda pada setiap sampel, yaitu bayam hijau dan merah segar atau tanpa perlakuan kemudian bayam hijau dan bayam merah sesudah perebusan. Dalam melakukan analisis kadar nitrit sebelumnya dilakukan preparasi sampel untuk menyiapkan sampel sehingga siap untuk dilakukan analisis menggunakan metode spektrofotometri visibel dengan pereaksi Griess. Pereaksi Griess berisi reagensia asam sulfanilat dan α -naftilamina diamin dihidroklorida. Prinsip reaksi Griess adalah pembentukan garam diazotasi asam sulfanilat oleh asam nitrit, yang diikuti dengan reaksi kopling dengan α -naftilamina membentuk suatu zat pewarna azo yang merah.

Preparasi sampel dimulai dengan pencucian semua sampel bayam, kemudian bayam yang sudah bersih dilakukan perajangan kecil-kecil tujuannya untuk memperluas permukaan sampel yang akan digunakan dalam analisis. Pelarut yang digunakan dalam analisis sampel adalah

aquades, karena nitrit merupakan ion sehingga ion nitrit (NO_2^-) akan terlarut baik dalam aquadest. Berikut adalah hasil dari analisis kadar nitrit :

Tabel VI.9 Kadar Nitrit (NO_2^-) Bayam Hijau dan Merah Segar

Sampel	konsentrasi	Bobot (g)	Kadar (mg/kg)	Rata-rata (mg/kg)	SD
Bayam hijau	1,5766		23,5234		
	1,5634	2,0107	23,3263	23,4084	0,1025
	1,5667		23,3756		
Bayam merah	0,8699		12,9068		
	0,8567	2,0219	12,7108	12,7272	0,1720
	0,8468		12,5638		

Tabel VI.10 Kadar Nitrit (NO_2^-) Bayam Hijau dan Merah Setelah Perebusan

Sampel	Konsentrasi	Bobot (g)	Kadar (mg/kg)	Rata-rata (mg/kg)	SD
Bayam hijau	1,1439		17,1025		
	1,2727	2,0067	19,0280	16,8392	2,3316
	0,9623		14,3870		
Bayam merah	0,3579		5,3033		
	0,3613	2,0251	5,3522	5,3359	0,0282
	0,3613		5,3522		

Berdasarkan hasil data yang diperoleh penetapan kadar nitrit dengan tiga kali pengukuran masing-masing bayam dalam keadaan segar dan setelah dilakukan perebusan, bayam dalam keadaan segar memiliki kadar nitrit yang lebih besar dengan bayam setelah dilakukan perebusan, yaitu terjadi penurunan kadar nitrit, dalam proses perebusan. Kadar nitrit pada bayam hijau segar diperoleh hasil rata-rata 23,4084 mg/kg, dan pada bayam merah 12,7272 mg/kg. Selanjutnya pada bayam hijau sesudah dilakukan perebusan diperoleh hasil rata-rata 16,8392 mg/kg dan pada bayam merah adalah 5,3459 mg/kg.

Standar nilai ADI (*Acceptable Daily Intake*) adalah 0,07 mg/kg berat badan manusia, jika seseorang mempunyai berat badan 60 kg maka nilai kadar nitrit yang masih aman untuk dikonsumsi adalah setara dengan 4,2 mg nitrit perhari. Apabila diambil dari salah satu contoh konsentrasi yang didapatkan dari hasil penelitian yaitu 23,4084 mg/kg mengkonsumsi 100g bayam perhari, maka diperoleh hasil perhitungan 2,340 mg, sehingga hasil tersebut masih aman dari batas paparan nitrit yang ditetapkan oleh ADI (*Acceptable Daily Intake*) yaitu sebesar 4,2 mg nitrit perhari.