

## **Bab II Tinjauan Pustaka**

### **II. 1 Tanaman Bayam**

Tanaman Bayam berasal dari Amerika tropik, di Indonesia Bayam sudah sangat merakyat dan dibudidaya dimana-mana sehingga cukup terjangkau bagi masyarakat Indonesia. Tanaman Bayam merupakan sumber serat pangan yang baik sehingga untuk mempertahankan nilai gizi yang terkandung dalam bayam dipengaruhi oleh cara pengolahannya (IKAPI, 2012).

#### **II. 1. 1 Klasifikasi Tanaman**

Bayam hijau termasuk kedalam kingdom plantae, divisi magnoliophyta, subdivisi angiospermae, kelas magnoliopsida, ordocaryophylalles, family amaranthaceae, genus alternanthera, dan spesies *Amarhantus hybridus* L.

Bayam merah termasuk kedalam kingdom plantae, divisi magnoliophyta, sub divisi angiospermae, kelas magnoliopsida, ordo caryophylalles, family amaranthaceae, genus alternanthera, dan spesies *Amarhantus tricolor* L.

#### **II. 1. 2 Morfologi Tanaman**

Tanaman bayam sangat mudah dikenali. Bayam yang dijual dipasaran dan biasa dikonsumsi sebagai sayuran disebut bayam cabutan atau bayam sekul. Terdapat tiga varietas bayam yaitu bayam hijau, bayam merah dan bayam hijau keputihan. Herba setahun, tegak atau agak condong, tinggi 0,4-1 m, dan bercabang (Dalimartha, 2000).



(a) (b)

Gambar II. 1 (a) Bayam Hijau (b) Bayam Merah  
(Dokumentasi Pribadi)

Batang lemah dan berair. Daun bertangkai, berbentuk bulat telur, lemas, panjang 5-8 cm, ujung tumpul, pangkal runcing, serta warnanya hijau, merah atau hijau keputihan. Bunga dalam tukul yang rapat dan berbentuk bulir (Dalimartha, 2000).

### II. 1. 3 Kandungan Gizi Tanaman Bayam

Tanaman bayam adalah salah satu jenis sayuran yang dikonsumsi masyarakat, banyak mengandung manfaat dan gizi. Secara umum, tanaman bayam dapat meningkatkan kerja ginjal, dan melancarkan pencernaan. Akar bayam merah berkhasiat sebagai obat disentri.

Bayam termasuk sayuran berserat yang dapat digunakan untuk melancarkan proses buang air besar. Makanan berserat sangat dianjurkan untuk dikonsumsi oleh penderita kanker usus besar, penderita kencing manis (diabetes melitus), kolesterol, hipertensi, dan menurunkan berat badan. Bayam memiliki banyak manfaat dan juga gizi yang sangat dibutuhkan oleh tubuh. Namun pada bayam juga terkandung zat yang berpotensi dapat membahayakan kesehatan tubuh seperti nitrat (Daliamarta, 2000).

Tabel II. 3 Kandungan Nutrisi pada 100 g Bayam Hijau dan Bayam Merah

<b>Komponen Gizi</b>	<b>Bayam Hijau</b>	<b>Bayam Merah</b>
Energi	36 kcal	51 kcal
Protein	3,5 gram	4,6 gram
Lemak	0,5 gram	0,6 gram
Karbohidrat	6,5 gram	10,0 gram
Kalsium	267 mg	368 mg
Fosfor	67 mg	111 mg
Zat Besi	3,9 mg	2,2 mg
Vitamin A	6,090mg	5,800 mg
Vitamin B1	0,08 mg	0,08 mg
Air	86,9 gram	86,0 gram
Vitamin C	80mg	80 mg

(Lingga, 2010)

## II. 2 Nitrit pada Tanaman

Nitrat dan nitrit adalah senyawa alami yang ada pada setiap tanaman karena merupakan bagian penting dari siklus nitrogen dan memiliki kadar yang tinggi terutama pada sayuran hijau, kandungan nitrat dan nitrit pada tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya penggunaan pupuk, intensitas cahaya, waktu panen, lokasi dan jenis tanah, dan kondisi pertumbuhan tanaman (Ranasinghe, 2018).

Tanaman tidak dapat langsung menggunakan nitrogen dalam bentuk alaminya, melainkan berubah dalam bentuk ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), ammonia ( $\text{NH}_3$ ), dan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) agar dapat diserap oleh tanaman dari dalam tanah yang diserap melalui akar. Nutrisi tanaman didalam tanah diserap oleh sel epidermis atau akar tanaman, kemudian diangkut melalui plasmodesma oleh jalur simplastik dan sel-sel korteks. Kemudian nutrisi tanaman dilepaskan dari sel parenkim masuk kedalam pembuluh xylem. Sumber nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) berasal dari

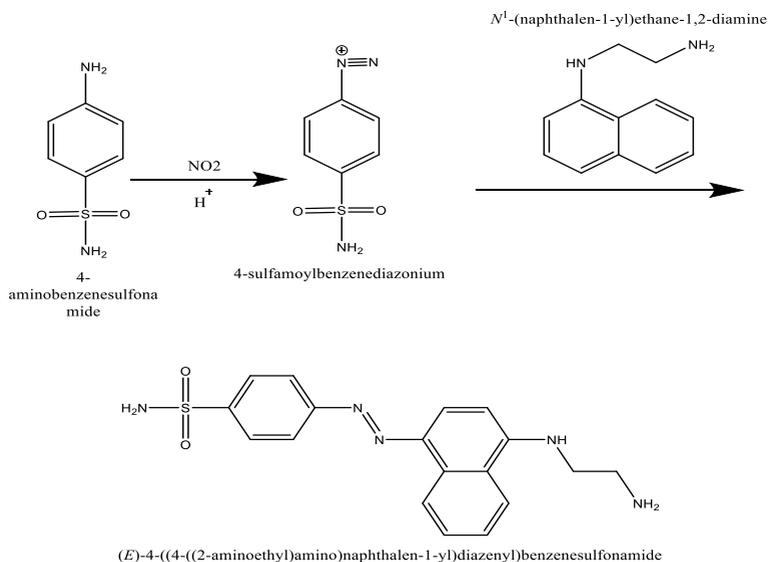
senyawa nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) yang diserap dari akar akan direduksi didalam akar menjadi nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) yang dikatalis oleh enzim nitrat reduktase (NR) yang teletak pada sitosol (Ohyama, 2010).

### II. 2. 1 Toksisitas Nitrit

Efek toksik dari nitrit adalah methemoglobinemia. Methemoglobin turunan dari hemoglobin di mana besi telah dioksidasi dari ion ferro ( $\text{Fe}_2^+$ ) menjadi ion ferri ( $\text{Fe}_3^+$ ) yang memberikan warna kecoklatan yang khas pada darah.  $\text{NO}_2^- + \text{oxyHb (Fe}_2) \longrightarrow \text{metHb (Fe}_3^+) + \text{NO}_3^-$ . Sehingga suplai oksigen keseluruhan jaringan tubuh terganggu. Bayi yang berusia kurang dari 3 bulan sangat rentan terhadap methemoglobinemia karena kadar oxyHb janin yang lebih tinggi dalam darah, yang teroksidasi menjadi metHb lebih mudah daripada oxyHb non-janin. Selain itu, bayi memiliki pH lambung yang lebih tinggi ( $\text{pH} > 4$ ), tetapi ada konsentrasi rendah zat pereduksi untuk mengubah kembali metHb menjadi oxyHb, dan sistem reduktase methemoglobin mereka belum matang (Tamme dkk, 2010). Tingkat normal methemoglobin dalam darah manusia adalah 1-3%. Setelah metHb mencapai 10% dari kadar Hb normal, gejala klinis seperti menjadi pucat, cyanosis (kulit menjadi biru), sesak napas, muntah dan shock. Kemudian kematian penderita terjadi apabila kandungan methaemoglobin lebih tinggi kurang lebih 70%. (Cahyadi, 2012).

## II. 2. 2 Analisis Nitrit

Analisis kadar nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) dapat ditentukan dengan beberapa metode yaitu spektrofotometri sinar tampak, HPLC, dan nitrimetri. Dalam penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak (visibel) dimana sampel terlebih dahulu direaksikan dengan pereaksi Griess (reagensia asam sulfanilat dan  $\alpha$ -naftilamina diamin dihidroklorida). Prinsip uji ini adalah reaksi diazotasi asam sulfanilat oleh asam nitrit, yang diikuti dengan reaksi kopling dengan  $\alpha$ -naftilamina membentuk suatu zat pewarna azo yang merah.



Gambar II. 2 Mekanisme Reaksi Griess (Duarte dkk., 2015)

Mekanisme dari reaksi Griess, asam sulfanilat dalam suasana asam bereaksi dengan nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) membentuk garam diazonium kemudian dilanjutkan reaksi kopling dengan diamine (naphthyl ethylenediamin) dan membentuk azo senyawa berwarna merah (Duarte dkk., 2015).

## **II. 3 Spektrofotometri**

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran didaerah spectrum ultraviolet dan cahaya tampak terdiri dari suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan cahaya monokromatik dalam jangkauan 200 nm hingga 800 nm dan suatu alat yang sesuai untuk menetapkan serapan. Kedua sel yang digunakan untuk larutan yang diperiksa dan larutan perbandingan harus mempunyai karakteristik spectrum yang sama ( Depkes RI, 1995).

### **II. 3. 1 Prinsip Spektrofotometer**

Menurut Gandjar dan Rohman, 2007 Hukum Lambert-Berr menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Dalam hukum Labert Beer ada beberapa batasan yaitu :

- Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama
- Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi
- Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan

Rumus hukum Lambert-Beer :

$$A = a.b.c$$

Dimana : A :absorban

a : absorptifitas

b : tebal kuvet (cm)

c : konsentrasi

T : transmitan

Absorptifitas (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi pada sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi. Pada analisis menggunakan alat spektrofotometri sinar tampak (Visibel) dilakukan pemilihan panjang gelombang dan pembuatan kurva kalibrasi.

Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimum dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan antara absorbansi dan konsentrasi baku sehingga diperoleh persamaan regresi linear. Persamaan regresi kemudian dipakai untuk menghitung kadar dalam suatu sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

### **II. 3. 2 Instrumentasi Spektrofotometer Visibel**

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran didaerah spectrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optic dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Menurut Khopkar, 2003 terdiri dari:

### 1. Sumber Cahaya

Sumber cahaya yang biasa digunakan pada spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram dan pada UV digunakan lampu hydrogen atau deuterium. Kelebihan lampu wolfram adalah energy radiasi yang dibebaskan tidak bervariasi pada berbagai panjang gelombang.

### 2. Monokromator

Monokromator adalah alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen panjang gelombang tertentu. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatik dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Polikromatis terdiri dari susunan celah masuk-filter-prisma-kisi-celah keluar.

### 3. Wadah Sampel (Kuvet)

Kuvet digunakan untuk wadah sampel berupa cairan yang akan dianalisis. Kuvet dari leburan silika yang dipakai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif pada daerah pengukuran 190-1100 nm, dan kuvet dari bahan gelas dipakai pada daerah pengukuran 380-1100 nm karena bahan dari gelas mengabsorpsi radiasi UV.

### 4. Detektor

Detector akan menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan. Sinar kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier dan dalam amplifier dan dalam recorder akan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada computer.

## 5. Recorder

Recorder merupakan sistem baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik menyatakan dalam bentuk % transmittan maupun absorbansi.

## II. 4 Validasi Metode

Validasi metode suatu prosedur analisis adalah proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Parameter yang digunakan dalam validasi metode adalah akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linearitas, rentang dan ketegaran (Depkes RI, 2014). Menurut Gandjar dan Rohman, suatu metode analisis harus divalidasi untuk memverifikasi bahwa parameter – parameter kinerjanya dapat mengatasi problem dalam analisis.

### 1. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis. Biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relative dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Presisi harus dilakukan pada tiga tingkatan yang berbeda yaitu :

- a. Keterulangan yaitu ketepatan (precision) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya maupun waktunya.
- b. Presisi antara yaitu ketepatan (precision) pada kondisi percobaan yang berbeda baik orangnya, peralatannya, tempatnya maupun waktunya.
- c. Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

Presisi mencakup simpangan baku, simpangan baku relative (RSD) atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan. Suatu metode dapat dinyatakan memiliki presisi yang baik apabila memiliki KV <2% tetapi kriteria ini fleksibel tergantung dari kondisi analit yang diperiksa, jumlah sampel dan kondisi laboratorium. Berikut ketentuan nilai KV yang dapat diterima Tabel II.2 kriteria KV yang dapat diterima.

Tabel 2. 4 Kriteria KV yang Dapat Diterima

<b>Kadar Analit</b>	<b>KV (%)</b>
≥1%	2,5
0,1%	5
1 ppm	16
1 ppb	32

Keseksamaan dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

Hasil analisis adalah  $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$

maka simpangan bakunya adalah:

$$SD = \sqrt{(\sum (x - \bar{x})^2) / n - 1}$$

Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) adalah:

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

## 2. Akurasi

Akurasi adalah ketelitian atau kedekatan nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali (*recovery*) pada suatu pengukuran. Untuk mencapai kecermatan yang tinggi dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat atau kesalahan sistematis seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi,

menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, dan sesuai prosedur. Menurut (Ravisankar, 2015) ada tiga cara untuk menentukan akurasi yaitu

- a. Membandingkan dengan standar referensi
- b. Perbaiki analit yang tinggi menjadi matrik kosong
- c. Penambahan standar analit

Menurut Harmita,(2004) kriteria rentang recovery yang dapat diterima pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2. 5 Rentang Recovery yang Dapat Diterima

<b>Analit pada matriks sampel (%)</b>	<b>Rentang recovery yang diperbolehkan</b>
100	98-102%
>10	98-102%
>1	97-103%
>0,1	95-105%
0,01	90-107%
0,001	90-107%
0,0001 (ppm)	80-110%
0,00001 (100 ppb)	80-110%
0,000001 (10ppb)	60-115%
0,0000001 (1 ppb)	40-120%

### 3. Batas Deteksi

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang spesifik menyatakan apakah analit dibawah atau diatas nilai tertentu.

#### 4. Batas Kuantifikasi

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ). Batas deteksi (Q) Karena  $k = 3$  atau  $10$  Simpangan baku ( $Sb$ )

$$= Sy/x, \text{ maka } Sy/x = \frac{\sqrt{\sum(X_i - \bar{X})^2}}{n-2}$$

Rumus LOD :

$$Q = \frac{3sy/x}{S1}$$

Rumus LOQ :

$$Q = \frac{10sy/x}{S1}$$

#### 5. Linieritas

Linearitas suatu metode adalah ukuran seberapa baik plot respon dari kalibrasi dengan konsentrasi mendekati garis lurus. Linearitas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada beberapa analit konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh kemudian diproses dengan menggunakan persamaan regresi linear yaitu  $y=bx+a$ . Untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (slope), intersep, dan koefisien korelasinya (Ravisankar, 2015).