

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daging Ayam dan olahannya

Protein hewani yang paling tinggi proteinnya salah satunya adalah daging ayam, baik itu ayam kampung maupun ayam pedaging (Sukmawati dkk., 2018). Daging Ayam merupakan kebutuhan pangan yang memiliki kandungan gizi seimbang dan diperlukan tubuh (R. Hidayah dkk., 2019). Sedangkan biasanya ayam yang dikonsumsi masyarakat terdapat dari rasa ayam kampung dan ras pedaging (Mardhika dkk., 2020). Tingginya permintaan daging ayam berbanding lurus dengan peningkatan produksi ayam. Masyarakat cenderung mengkonsumsi daging ayam karena tidak membutuhkan waktu lama untuk mengolahnya dan harganya yang relatif terjangkau. Dalam penelitian ini digunakan daging dari ayam pedaging atau (broiler) (Kartikasari dkk., 2019).

Daging ayam merupakan sumber protein hewani yang kaya akan gizi, lezat, mudah ditemukan dan terbilang murah (Rini dkk., 2019). Ciri tampilan daging dapat diukur dari keempukan dan nilai pH diukur dengan menggunakan alat. pH normal untuk daging ayam pedaging yaitu 5,96 hingga 6,07 dan 6,11. Faktor yang menentukan mutu daging yaitu keempukan dan tekstur. Kehalusan menyeluruh ditutupi dengan keempukan dan terkait dengan beberapa sudut pandang, diantaranya kemudahan penetrasi gigi, kemudahan mengunyah, dan jumlah ampas yang tersisa sesudah dikunyah. Ayam ras pedaging memiliki keempukan dengan kisaran 1,82 kg/cm² hingga 2,19 kg/cm²; 5,78 kg/cm²; 6,26 hingga 7,78 mm/g. Daging ayam pedaging memiliki warna dari kuning pucat hingga putih, dan rasanya mulai dari ringan hingga asin. Tekstur ayam broilernya agak empuk sampai halus dan kelembutannya agak empuk sampai empuk (R. Hidayah dkk., 2019).

Daging ayam ini dapat diolah menjadi berbagai macam salah satunya dibuat nugget. Asal kata chicken nugget dari chicken dengan arti ayam dan nugget dengan arti gumpalan atau bungkahan (Abduh & Septiadi, 2021). Chicken nugget adalah produk ayam yang telah diproses, dipotong kecil, dimasak, dibuat dari campuran ayam yang sudah digiling dengan atau tanpa bahan tambahan lain. Produksi nugget terdiri dari lima tahap, yaitu penggilingan dengan campuran bumbu, es dan bahan tambahan, pengukusan dan pengulenan, pelapisan dengan adonan perekat dan pelumur tepung roti, sebelum digoreng dan dibekukan (Restu Hidayah dkk., 2021).

Nugget adalah makanan beku yang siap disantap. Dengan kata lain, ini adalah produk yang dipanaskan hingga setengah (dimasak sebelumnya) dan kemudian dibekukan. Produk frozen siap saji ini hanya digoreng pada suhu 150°C selama 1 menit. (Abduh & Septiadi, 2021)

Chicken nugget merupakan produk teknologi pengolahan daging, dengan nilai gizi dan terjangkau dibanding dengan daging sapi. Komposisi nutrisi nugget ayam meliputi protein, karbohidrat, mineral dan lemak. Protein yang dikandungnya terdiri dari asam amino yang cukup lengkap (Wulandari dkk., 2016).

Kekurangan protein menyebabkan penyakit kwashiorkor (busung lapar), yang biasanya menyerang anak dibawah 5 tahun dan gizi buruk (G. R. Saputri dkk., 2019). Jika terjadi protein yang berlebih dalam tubuh bisa mengakibatkan kolesterol, berat badan meningkat, kerusakan ginjal kerusakan otak kerusakan hati (Salim. & Rahayu, 2017). Salah satu pemenuhan protein dalam tubuh manusia yaitu dengan mengkonsumsi makanan seperti tahu, tempe, kacang-kacangan, buah-buahan (misalnya pisang, durian, alpukat), nasi, dan jagung. Selain itu, ikan, makanan laut, daging (burung, kerbau, kambing, sapi, kelinci, ayam dan hewan lainnya, tetrapoda) dan hewan turunan daging lainnya, susu, telur, keju, dll. (Nurhadiyati & Darmawati, 2017).

2.2 Protein

Asal kata protein dari kata protos atau proteos artinya di atas segalanya. Protein adalah polimer yang tersusun dari asam amino. Protein termasuk komponen penting dari sel hewan dan manusia. Karena sel adalah penyusun tubuh kita, protein yang ditemukan dalam makanan memainkan peran kunci dalam pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Protein merupakan bagian terbesar dari tubuh setelah air (Wahyudiat, 2016). Protein termasuk nutrisi penting dalam tubuh manusia. Protein merupakan penyusun jaringan tubuh dengan fungsi sebagai sumber bahan bakar (Okoronkwo dkk., 2017). Ciri protein lainnya yaitu mengandung struktur N, selain C, H, O dan S. Makromolekul yang paling melimpah dalam sel (hampir setengah dari berat keringnya) adalah protein (Wahjuni, 2014).

Protein diidentifikasi secara nutrisi berdasarkan komposisi asam aminonya, yaitu rantai polimer yang berasal dari asam amino yang terhubung dari ikatan peptida. Manusia membutuhkan sejumlah asam amino esensial agar tubuh dapat ternutrisi dengan baik. Pangan nabati dan hewani mengandung protein dengan atau tanpa asam amino esensial. Saat proses pencernaan, protein dipecah di perut menjadi rantai polipeptida yang lebih kecil oleh aksi asam klorida dan protease (Okoronkwo dkk., 2017). Asam amino juga membentuk protein bertindak sebagai prekursor untuk sebagian besar koenzim, hormon, asam nukleat, dan molekul yang diperlukan untuk kehidupan (Wahyudiat, 2016).

Protein sederhana hanya mengandung asam amino, sedangkan protein kompleks mengandung aditif non-asam amino yaitu lipoprotein, protein heme dan glikoprotein (Wahjuni, 2014). Protein memiliki berat molekul berkisar antara 5.000 hingga lebih dari satu juta karena

itulah mengapa protein diklasifikasikan sebagai makromolekul. Diperkirakan tubuh manusia mengandung 100.000 jenis protein, masing-masing dengan fungsi fisiologisnya sendiri. Protein memiliki massa molar yang tinggi, mulai dari 5000 g hingga 1×10^{-7} g¹⁶. Protein terdiri dari 20 jenis asam amino (Wahyudati, 2016).

2.2.1 Struktur Protein

Terdapat beberapa tingkatan yaitu primer, sekunder, tersier ditemukan struktur asam amino yang menyusun protein di dalam molekul yang terdiri atas rantai polipeptida yang berantai tunggal dan yang terakhir kuartener yang ditemukan di dalam interaksi molekul rantai polipeptida yang berantai banyak (Probosari, 2019).

1. Struktur Primer

Merupakan rantai polipeptida dari protein yang terdiri dari asam amino yang terikat secara kovalen oleh ikatan peptida. (Wahyudati, 2016) dan ikatan disulfida dari polipeptida di dalam atau di antara rantai (Wahjuni, 2014). Struktur primer berbentuk rantai panjang serta lurus sebagai filamen polipeptida tunggal (Wahyudati, 2016). Tingkat struktur primer ditentukan oleh jumlah serta urutan asam amino pada protein (Probosari, 2019).

2. Struktur Sekunder

Merupakan bagian dari rantai polipeptida dilipat untuk membentuk struktur reguler tertentu, seperti pembentukan ikatan kovalen antara asam amino dan sistein ikatan disulfide serta ikatan hidrogen gugus polar residu asam amino melibatkan α -helix (Wahjuni, 2014). Protein berinteraksi antarmolekul melewati rantai samping asam amino dalam struktur sekundernya (Wahyudati, 2016). Struktur sekunder ditentukan oleh komposisi rantai asam amino, sifat, jumlah protein, dan yang dapat membentuk lipatan lurus atau heliks. (Probosari, 2019).

Derajat struktur sekunder ditentukan oleh derajat keteraturan struktur polipeptida (Probosari, 2019). Dalam struktur sekunder rantai polipeptida protein, ikatan hidrogen memainkan peran penting dalam pembentukan struktur yang terbentuk antara atom hidrogen yang melekat pada atom nitrogen dari asam amino dan atom oksigen yang ada pada karbonil. Sekelompok asam amino yang berbeda. Ikatan hidrogen ini disebut ikatan hidrogen intramolekul, yaitu ikatan hidrogen yang terjadi pada molekul tunggal dan sering ditemukan sebagai lembaran alfa dan lembaran beta terdapat 2 macam dalam struktur sekunder, yaitu α -heliks dan β -sheet (Wahyudati, 2016).

3. Struktur Tersier

Terdiri dari struktur primer atau sekunder yang stabil dibentuk oleh ikatan hidrofobik, hidrofilik, garam, hidrogen, dan ikatan disulfida (antara atom S). Contoh struktur tersier yaitu globular dan berserat (Wahyudati, 2016). Ikatan ini memberikan bentuk tiga dimensi, membentuk struktur protein yang padat. Struktur tersier adalah efek keseluruhan dari sebagian besar gaya molekul intrinsik, termasuk kekuatan struktur primer dan sekunder (Probosari, 2019).

4. Struktur Kuartener

Ini adalah hasil interaksi banyak molekul tersier setiap unit molekul tersier disebut subunit. dan seluruh rantai polipeptida adalah struktur keempat. (Wahyudati, 2016). Struktur kuarterner adalah molekul kompleks yang terdiri dari beberapa rantai polipeptida. Dengan demikian, dalam struktur kuartener, rantai polipeptida di antara mereka juga dapat saling berinteraksi dalam bentuk interaksi polar, nonpolar, dan Van der Waals (Wahjuni, 2014). Struktur kuarterner ditentukan menjadi homogen (mengandung protomer yang sama) atau heterogen (protomer konformasi berbeda) (Probosari, 2019).

2.2.2 Pengelompokan Protein

Protein dibagi menjadi dua kelompok: Protein hewani dan protein nabati. Protein hewani terdapat pada hewan dan protein nabati terdapat pada tumbuhan. (Okoronkwo et al., 2017). Protein dapat kita temukan pada tahu, tempe, kacang-kacangan, buah-buahan (misalnya pisang, durian, alpukat), nasi, dan jagung, dan sering disebut protein nabati. Selain itu, kami mendefinisikan protein hewani seperti ikan, makanan laut, daging (burung, kerbau, kambing, sapi, kelinci dan hewan lainnya, tetrapoda) dan hewan turunan daging lainnya, susu, telur, keju, dll. (Nurhadiyati & Darmawati, 2017).

Protein dibutuhkan untuk pertumbuhan, perkembangan, pembentukan otot, produksi sel darah merah, kekebalan, enzim dan hormon serta pembentukan jaringan lain dalam tubuh. Protein diambil oleh asam amino dan kemudian diubah menjadi protein tubuh di otot dan jaringan lain. Protein dapat digunakan sebagai sumber yang kuat jika asupan karbohidrat tidak cukup. Misalnya saat diet ketat atau olahraga berat. Sekitar 15% dari total kalori yang dikonsumsi berasal dari protein (Wahyudati, 2016).

2.3 Identifikasi Protein

Identifikasi protein terbagi menjadi dua menurut (Hanum, 2017) yaitu:

2.3.1 Uji Kualitatif

1. Uji Xantoproteat

Pengujian xanthoprotein terdiri dari pencampuran larutan HNO_3 yang dikumpulkan atau campuran cuka dan asam sulfat pekat, dan kemudian dipanaskan. Tes ini digunakan untuk menentukan apakah molekul protein memiliki cincin benzena. Protein yang mengandung cincin benzena berubah menjadi kuning atau jingga bila dipanaskan dengan larutan HNO_3 pekat. Dalam albumin dan triptofan, ini menunjukkan adanya rantai cincin benzena. Pembentukan lapisan kuning, oranye-kuning atau kasein dan gelatin dengan lapisan merah transparan menunjukkan cincin negatif atau kekurangan benzena.

2. Uji Millon

Uji millon dilakukan dengan menambahkan reagen yang mengandung $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ dan HNO_2 . Uji millon bereaksi positif dengan senyawa yang mengandung cincin benzena.

3. Uji Timbel Sulfida

Larutan yang digunakan yaitu larutan NaOH 40%. larutan NaOH , larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ atau Pb asetate. Larutan ini digunakan untuk menentukan keberadaan sulfur dalam protein. Ketika dipanaskan dengan NaOH 40%, protein yang mengandung belerang mengandung Na_2S dan zat lainnya. Setelah itu $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ atau Pbasetate ditambahkan untuk memberikan PbS yang dihasilkan berwarna coklat sampai hitam.

4. Uji Ninhidrin

Uji ninhidrin dapat digunakan untuk mengukur asam amino. Setiap asam amino atau peptida, termasuk asam amino bebas, bereaksi dengan ninhidrin untuk membentuk kompleks biru sampai ungu. Namun, prolin dan hidroksiprolin memberikan senyawa kuning. Albumin, gelatin, dan fenilalanin berwarna ungu karena dapat bereaksi dengan ninhidrin. Ini menunjukkan bahwa ketiga zat uji mengandung kumpulan asam amino bebas. Kasein dan pepton tidak berubah menjadi ungu ketika bersentuhan dengan ninhidrin, tetapi tidak berwarna dan berubah menjadi merah muda.

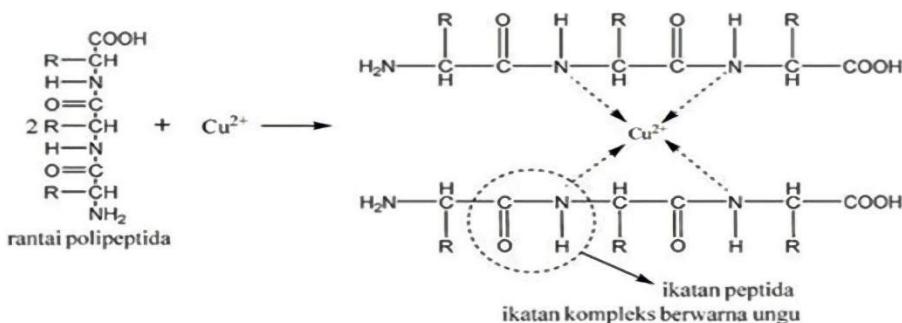
5. Uji Kelarutan Protein

Kelarutan protein dalam air, asam dan basa berbeda. Beberapa dari mereka larut sementara yang lain sukar larut. Namun, tidak semua protein dapat larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform. Menyiapkan protein atau menambahkan etanol akan membuat protein lebih padat. Inilah sebabnya mengapa etanol mengikat lapisan air di sekitar molekul protein. Kelarutan protein dalam air sangat tergantung pada banyak faktor, seperti pH,

suhu, energi ion dan stabilitas dielektrik pelarut. Protein seperti albumin dan gelatin hanya tidak larut dalam NaOH 40% dan kloroform. Karena albumin dan gelatin bersifat pelarut lemak.

6. Uji Biuret

Pada uji Beuret, ion Cu²⁺ dalam pereaksi Beuret berinteraksi dengan ikatan polipeptida atau peptida dalam kondisi alifatik membentuk senyawa kompleks berwarna ungu. Reaksi ini positif untuk dua atau lebih ikatan peptida serta negatif untuk asam amino bebas atau dipeptida. Biuret berisi campuran larutan NaOH 0,1 M dan larutan CuSO₄ 1%. Biuret digunakan untuk mendeteksi adanya ikatan peptida dalam senyawa ini. Jika komponen percobaan kaya akan peptida, uji biuret akan memberikan warna ungu sebagai protein. Jika komponen eksperimental mengandung lebih sedikit ikatan peptida, uji diuresis menghasilkan warna merah muda, seperti urea.



Gambar 2.1 Reaksi Protein dengan Biuret

2.3.2 Uji Kuantitatif

1 Metode Kjeldahl

Unsur nitrogen pada protein dapat ditentukan dengan cara kuantitatif menggunakan metode kjeldahl dengan cara destruksi dengan asam pekat.

2 Metode Dumas

Metode Dumas adalah metode kuantitatif untuk menentukan kandungan protein dan nitrogen total suatu sampel. Prinsip metode ini didasarkan pada pembakaran sampel pada suhu tinggi, yang pada langkah terakhir diubah menjadi gas N₂, yang kemudian ditangkap oleh detektor sebagai % nitrogen atau protein.

3 Metode Biuret

Adalah metode menggunakan larutan basa biuret untuk penentuan kadar protein, yang berinteraksi dengan ikatan peptida fragmen protein, sehingga larutan biuret berubah dari biru menjadi ungu. Perubahan warna tampak diukur oleh panjang gelombang dengan spektrofotometri sinar tampak-ultraviolet. Jika semakin tinggi kandungan protein dalam

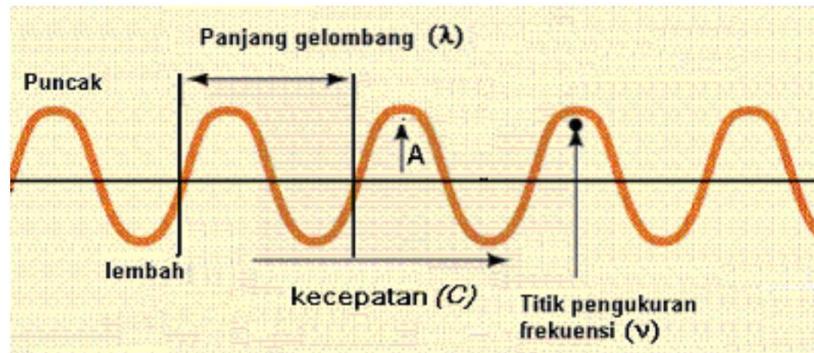
suatu zat maka semakin tinggi pula intensitas cahaya yang diserap oleh spektrofotometri UV-Vis (Salim. & Rahayu, 2017). Metode kolorimetri berdasarkan reaksi biuret dapat menjadi prosedur pilihan karena kesederhanaannya, ketersediaan peralatan, dan potensi untuk mengotomatiskan metode tersebut (Drochioiu dkk., 2016). Metode Biuret menggunakan spektroskopi UV-Vis, karena metode ini sangat spesifik untuk protein, juga mendeteksi nitrogen dari produk non-protein dan lebih cepat daripada metode lain (Tri Juli Fendri dkk., 2019)

4 Spektrofotometer UV-Vis

a) Pengertian spektrofotometer uv-vis

Spektrofotometer UV-Vis dirancang untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap oleh sampel. Sinar UV dan sinar tampak memiliki energi yang cukup untuk mendorong elektron di kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV tampak umumnya digunakan untuk molekul anorganik atau kompleks dalam larutan. Spektrum UV-Vis luas dan sangat sedikit informasi struktural yang dapat diperoleh dari spektrum ini. Namun, spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif. Konsentrasi analit dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu menggunakan hukum Lambert-Beer. Sinar ultraviolet memiliki panjang gelombang 200-400 nm dan cahaya tampak memiliki panjang gelombang 400-800 nm. (Dachriyanus, 2004).

untuk menentukan struktur molekul senyawa organik dapat menggunakan interaksi senyawa organik menggunakan sinar ultraviolet dan sinar tampak. Bagian molekul yang paling cepat merespon cahaya adalah elektron terikat dan elektron tidak terikat (elektron bebas). Ultraviolet dan cahaya tampak adalah energi yang memindahkan elektron dari keadaan dasar ke keadaan energi yang lebih tinggi. Eksitasi elektron ini dicatat sebagai spektrum, dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi dari jenis elektron yang ada dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah suatu elektron tereksitasi, semakin panjang panjang gelombangnya, semakin banyak elektron yang tereksitasi dan semakin tinggi absorbnsinya. (Suhartati, 2017). Panjang gelombang (λ) sebenarnya adalah jarak antara lembah dan gunung. Frekuensi adalah kecepatan cahaya dibagi dengan panjang gelombang (λ). Panjang gelombang (v) adalah satuan panjang gelombang. Amplitudo bentuk gelombang adalah blok maksimum pada horizontal (Dachriyanus, 2004).

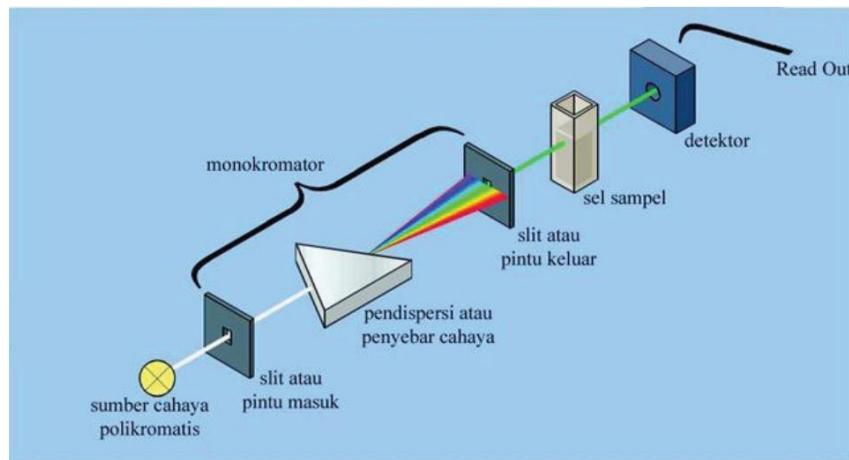


Gambar 2. 2 Gelombang

Beberapa istilah digunakan merujuk pada molekul dalam spektrofotometri UV-Vis adalah efek batokromik atau pergeseran merah, kromofor, auksokrom, hipsokromik, hipokromik dan efek hipokromik atau pergeseran biru. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang sangat kuat menyerap cahaya dalam rentang UV tampak, seperti heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbon dioksida, karbon monoksida, dan gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas yang melekat pada kromofor dan meningkatkan penyerapan sinar tampak UV oleh kromofor pada panjang gelombang dan intensitas (gugus hidroksil, amina, halide, dan lainnya). (Suhartati, 2017).

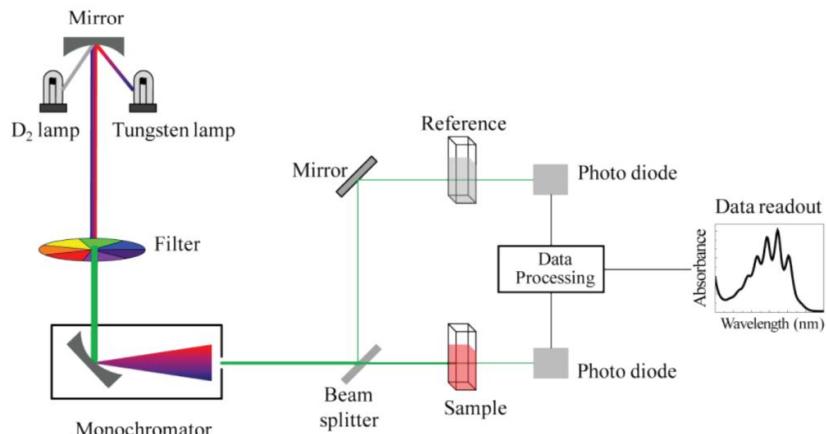
b) Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

Secara umum, jenis spektrofotometer dibagi menjadi: *single-beam* dan *double-beam*. Instrumen *single-beam* dapat digunakan untuk mengukur absorbansi secara kuantitatif pada satu Panjang gelombang. Peralatan balok tunggal memiliki beberapa keunggulan seperti kesederhanaan, biaya rendah dan penghematan biaya, yang merupakan keuntungan praktis. Beberapa instrumen menghasilkan instrumen *single-beam* untuk pengukuran sinar UV dan sinar tampak. Panjang gelombang minimum adalah 190-210 nm dan panjang gelombang maksimum adalah 800-1000 nm. (Skoog, DA, 1996). *Double-beam* dirancang untuk digunakan dalam panjang gelombang dari 190 nm hingga 750 nm (Suhartati, 2017).



Gambar 2. 3 Komponen spektrofotometer UV

Dua balok yang dibentuk oleh cermin V disebut beam splitter. Balok pertama melewati larutan blanko dan berkas kedua melewati sampel secara bersamaan. Sumber UV polikromatik adalah lampu deuterium dan cahaya tampak atau cahaya tampak adalah lampu tungsten. Monokromator dari spektrometer UV-Vis menggunakan lensa prisma dan filter optik. Kuvet sampel adalah kuarsa atau kuvet kaca dengan lebar yang berbeda. Sebuah detektor berupa fotodetektor, detektor termal atau detektor fotodiода digunakan untuk menangkap cahaya yang telah melewati sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Skema spektrofotometer UV-Vis (*double-beam*) (Suhartati, 2017).



Gambar 2. 4 Double-beam

c) kolorimetri

Spektrofotometri banyak digunakan dalam bidang analisis kimia, terutama di bidang farmasi (Karinda dkk., 2013). Penerangan spektrofotometri dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Sebuah studi kualitatif dapat digunakan untuk menentukan kualitas obat atau metabolitnya. Data spektrofotometri untuk cahaya tampak didasarkan

pada panjang gelombang puncak, intensitas, pH, dan efek pelarut. Selain itu, beberapa analisis kuantitatif menggunakan standar emisi (larutan sampel) dan mengukur intensitas transmisi cahaya.(Putri & Setiawati, 2015).

Zat yang dapat dianalisa dengan menggunakan spektrofotometri tampak berupa larutan dan zat tersebut harus diwarnai, sehingga analisis menurut pembentukan larutan berwarna disebut juga dengan metode kolorimetri. Metode kolorimetri adalah metode yang lebih efektif dan lebih akurat dibandingkan dengan metode kjeldahl. Tes protein kolorimetri dapat dilakukan dengan berbagai reagen, termasuk Biuret, Bradford dan Lowry. Dan di antara ketiga reagen yang sangat sensitif adalah reagen Lowry (Farida dkk., 2021). Metode kolorimetri merupakan metode yang mudah digunakan, tidak mahal dan dapat mengukur sejumlah kecil protein. Tetapi, metode sinar tampak ini dapat memberikan pembacaan protein positif palsu tergantung pada metode persiapan sampel yang digunakan dan kelarutan sampel uji yang digunakan (Hayes, 2020).

2.4 Validasi Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian kimia di laboratorium dipantau dan diuji untuk memastikan bahwa metode tersebut memberikan informasi yang akurat dan tepat sasaran. Jadi, perlu memvalidasi metodenya. Di setiap lab, metode ini bekerja dengan benar di lingkungan lokal. validasi atau verifikasi suatu sistem adalah seperangkat standar pengujian laboratorium yang menghasilkan informasi tentang akurasi, presisi, dan sebagainya. Proses yang dihasilkan harus didaftarkan sebagai SOP. Setelah prosedur disetujui supervisor, yang bertanggung jawab atas klinik, harus menyetujui penggunaan normal di laboratorium (Riyanto, 2014).

2.4.1 Akurasi

Merupakan pengukuran perbedaan antara persyaratan pengujian yang diharapkan dengan nilai referensi karena pendekatan dan pengujian yang salah di laboratorium. akurasi umumnya dinyatakan dalam persen. Akurasi dan presisi bersama-sama menentukan kesalahan pengukuran secara keseluruhan. Akurasi biasanya dinilai dengan menguji sampel dengan konsentrasi berbeda (rendah, sedang dan tinggi) yang mencakup rentang kerja. Konsentrasi standar ini harus berbeda dari konsentrasi yang digunakan untuk menghasilkan kurva kalibrasi dan harus diperoleh dari larutan yang berbeda.

$$\% \text{ Perolehan kembali (recovery)} = \frac{\text{Konsentrasi pengukuran}}{\text{Konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

2.4.2 Presisi

Presisi adalah ukuran ketelitian suatu hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran yang berulang-ulang dengan besaran yang sama. Dua rangkaian kondisi umum yaitu yang dapat diulang dan kondisi yang dapat direproduksi. Kondisi berulang terjadi ketika sampel dianalisis oleh analis yang sama di laboratorium yang sama pada hari yang sama dengan instrumen yang sama (misalnya kromatografi gas) atau bahan (misalnya reagen uji). Semua variasi kondisi ini (misalnya analis yang berbeda, tanggal yang berbeda, instrumen yang berbeda, laboratorium yang berbeda) dapat direproduksi. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi, atau standar deviasi relatif, dari hasil pengujian yang diperoleh dari standar kontrol kualitas yang diproduksi secara independen. Presisi bergantung pada konsentrasi dan biasanya memerlukan pengukuran pada berbagai konsentrasi di seluruh rentang operasi, seperti rendah, sedang, dan tinggi. Pada konsentrasi rendah, presisi yang dapat diterima adalah 20%.

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

Sementara untuk rumus simpangan baku relatif sebagai berikut :

$$\%KV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

Keterangan:

SD : Standar Deviasi

X : Nilai Rata-Rata

N : Ulangan

RSD : Relatif Standar Deviasi

Pada kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai $\%RSD \leq 2\%$

2.4.3 Linearitas

Suatu metode dikatakan linier jika terdapat hubungan langsung antara konsentrasi analit dalam matriks dengan respon metode dalam rentang konsentrasi analit (*working range*). Rentang kerja ditentukan oleh tujuan prosedur dan hanya dapat mencerminkan sebagian kecil dari rentang linier total. Koefisien korelasi (R^2) yang tinggi sebesar 0,99 biasanya digunakan sebagai batas linier. Namun, itu tidak cukup untuk mengkonfirmasi keberadaan korelasi linier dan metode dengan angka koefisien kurang dari 0,99. Parameter ini tidak berlaku untuk kuantitatif jika batas konsentrasi untuk hasil pelaporan belum ditetapkan.

2.4.4 Sensitivitas (batas deteksi dan batas kuantitasi)

- LOD (batas deteksi)

LOD adalah konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi dan diidentifikasi secara pasti. LOD didefinisikan sebagai konsentrasi latar belakang paling rendah yang dapat dideteksi dengan pasti. Terdapat macam metode untuk mendeteksi LOD, masing-masing berdasarkan analisis hubungan antara sampel probe sinyal dan noise reaksi. LOD adalah parameter yang dapat dipengaruhi oleh perubahan kecil dalam sistem analisis (misalnya, suhu, jarak reaktor, daya matriks, kondisi yang sesuai). Oleh karena itu, penting untuk selalu menentukan parameter ini di laboratorium saat menguji metode.

$$\text{BD (Batas Deteksi)} = \frac{3SD}{slope}$$

Keterangan :

SD : Nilai standar deviasi

Slope : Nilai b yang diperoleh dari persamaan regresi kurva baku

- LOQ (batas kuantisasi)

Batas kuantifikasi adalah parameter analisis mikroskopis dan didefinisikan sebagai jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi persyaratan yang akurat dan tepat. Juga dikenal sebagai batas kuantifikasi (LOQ) atau batas pelaporan (batas pelaporan), ini adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan tingkat akurasi dan presisi yang dapat diterima di bawah kondisi pengujian yang disepakati. Batas kuantifikasi diperiksa untuk menghitung data dari kurva kalibrasi.

$$\text{BK (Batas Kuantitas)} = \frac{10SD}{slope}$$

Keterangan :

SD : Nilai standar deviasi

Slope : Nilai b yang diperoleh dari persamaan regresi kurva baku