

**PENETAPAN KADAR NITRIT (NO_2^-) PADA BAWANG MERAH (*Allium cepa* L.)
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

Laporan Tugas Akhir

**Mia Krismonika Situmorang
11161036**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENETAPAN KADAR NITRIT (NO_2^-) PADA BAWANG MERAH (*Allium cepa* L.)
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

Laporan Tugas Akhir

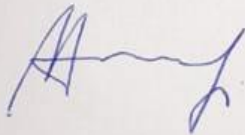
Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Mia Krismonika Situmorang
11161036**

Bandung, Juli 2020

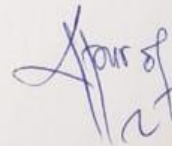
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Emma Emawati, ST.,M.Si.)

Pembimbing Serta,



(apt. Purwaniati, M. Si.)

ABSTRAK

PENETAPAN KADAR NITRIT (NO_2^-) PADA BAWANG MERAH (*Allium cepa L.*) MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK

Oleh :

Mia Krismonika Situmorang
11161036

Bawang merah merupakan umbi yang banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia baik sebagai bahan makanan maupun obat tradisional karena kandungan senyawa yang dimilikinya. Selain senyawa bermanfaat, bawang merah juga memiliki senyawa berbahaya bagi tubuh yaitu nitrit (NO_2^-). Nitrit yang berlebih dalam tubuh menyebabkan pembentukan methemoglobin sehingga menyebabkan kurangnya asupan oksigen dalam tubuh. Untuk menjamin keamanan pangan, pemerintah mengatur batas aman nitrit melalui ADI (*Acceptable Daily Intake*) dan menetapkan sebesar 0–0,06 mg/Kg BB. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui jumlah nitrit dalam sampel bawang merah sesuai dengan ADI. Penelitian dilakukan menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak dengan pereaksi griess yang didasarkan pada reaksi diazotasi antara asam nitrit dengan amin aromatis primer yang akan membentuk garam diazonium. Validasi metode dilakukan dengan beberapa parameter seperti liniertitas dengan nilai $R^2 = 0,9886$, BD= 0,1908 $\mu\text{g/mL}$, BK= 0,6360 $\mu\text{g/mL}$, akurasi dengan nilai % *recovery* konsentrasi 0,6 $\mu\text{g/mL}$ =115,625 %, 0,8 $\mu\text{g/mL}$ =104,524 % dan 1 $\mu\text{g/mL}$ =118,175%, presisi dengan nilai % koefisien variasi hari ke 1= 4,7468% ke 2= 3,6314%, ke 3= 1,1704% dan uji selektivitas menunjukkan metode selektif untuk nitrit. Penetapan kadar nitrit pada sampel bawang merah diperoleh rata-rata sebesar 4,0337 $\mu\text{g/g}$.

Kata kunci : nitrit, bawang merah, spektrofotometri sinar tampak, pereaksi Griess.

ABSTRACT

DETERMINATION OF NITRIT LEVEL (NO₂⁻) IN SHALLOT (*Allium cepa* L.) USING SPECTROFOTOMETRY VISIBLE METHOD

By :

Mia Krismonika Situmorang

11161036

Shallots are bulbs that are widely used by Indonesian people both as food and traditional medicine because of the content of the compounds they have. In addition to beneficial compounds, onion also has a harmful compound for the body, nitrite (NO₂⁻). Excessive nitrite in the body causes the formation of methemoglobin, causing a lack of oxygen intake in the body. To ensure food safety, the government regulates the safe limit of nitrite through ADI (Acceptable Daily Intake) and sets 0-0.06 mg / kg kg. The purpose of this study is to determine the amount of nitrite in shallot samples according to ADI. The study was conducted using visible light spectrophotometry method with griess reagents based on the diazotation reaction between nitric acid and primary aromatic amines that would form diazonium salts. Method validation is done with several parameters such as linearity with a value of $R^2 = 0.9886$, LOD = 0.1908 $\mu\text{g} / \text{mL}$, LOQ = 0.6360 $\mu\text{g} / \text{mL}$, accuracy with a% recovery concentration value of 0.6 $\mu\text{g} / \text{mL} = 115.625\%$, 0.8 $\mu\text{g} / \text{mL} = 104.524\%$ and 1 $\mu\text{g} / \text{mL} = 118.175\%$, precision with the% coefficient value of the first day = 4.7468% day 2 = 3.6314%, day 3 = 1.1704% and selectivity test shows a selective method for nitrite. Determination of nitrite levels in shallots samples obtained an average of 4.0337 $\mu\text{g} / \text{g}$.

Keywords: nitrite, shallots, visible light spectrophotometry, Griess reagent.

KATA PENGANTAR

Puji serta syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah menolong hambaNya dalam menyelesaikan penelitian serta penyusunan skripsi ini dengan baik. Berbagai hambatan serta tantangan telah dilewati dalam penyusunan skripsi ini namun berkat pertolongan rahmatNya penulis mampu menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan mengambil judul “PENETAPAN KADAR NITRIT (NO_2^-) PADA BAWANG MERAH (*Allium cepa* L.) MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK”. Skripsi ini dibuat guna memenuhi syarat untuk menyelesaikan studi di jenjang Sarjana Farmasi. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik serta saran membangun supaya tercapainya skripsi ini menjadi lebih baik.

Penulis juga tidak lupa pada pihak-pihak yang telah mendukung dan membantu penulis dalam proses penelitian serta penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa penyusunan ini tidak dapat terselesaikan tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak, maka dengan kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada:

1. Kedua orang tua serta adik saya yang sudah memberikan berbagai dukungan serta doanya yang terus-menerus tanpa henti.
2. Ibu Emma Emawati, ST.,M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan, semangat serta waktunya selama penelitian untuk menyelesaikan skripsi ini
3. Ibu apt. Purwaniati, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan, semangat serta saran dalam menyelesaikan skripsi ini
4. Teman-teman seperjuangan angkatan 2016 serta teman-teman FA1 2016 dan terkhusus sahabat dekat saya yang selalu memberikan semangat, motivasi dan berjuang bersama untuk menyelesaikan studi di kampus Universitas Bhakti Kencana.

5. Seluruh dosen serta staf Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana dan berbagai pihak yang telah membantu sehingga penelitian serta penyusunan skripsi ini terlaksana dengan sebaik-baiknya.

Semoga skripsi ini dapat memberikan pengetahuan dan informasi yang lebih luas serta bermanfaat bagi para pembaca. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan baik dalam isinya maupun dalam penyusunan.

Bandung, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II. 1 Bawang Merah	4
II. 2 Nitrit	7
II. 3 Analisis Nitrit	10
II. 4 Spektrofotometer UV-Vis	11
II. 5 Validasi Metode	13
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	17
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	18
IV. 1 Determinasi	18
IV. 2 Persiapan Sampel	18
IV. 3 Pembuatan Pereaksi	18
IV. 4 Pembuatan Larutan Standar Nitrit	18
IV. 5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	18
IV. 6 Uji Selektivitas	19
IV. 7 Optimasi Suhu Reaksi	19
IV. 8 Optimasi Waktu Reaksi	19
IV. 9 Pembuatan Kurva Kalibrasi	19
IV. 10 Validasi	20
IV. 11 Penetapan Kadar Nitrit	20
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	31
VI. 1 Kesimpulan	31
VI. 2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32

LAMPIRAN.....	35
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Varietas Bawang Merah	6
Tabel II.2 Komposisi Kimia Bawang Merah Per 100 g Bahan	6
Tabel II. 3 Klasifikasi Sayuran Menurut Kandungan Nitratnya (mg kg^{-1} fm)	9
Tabel II.4 Rentang Rata-Rata % Recovery yang Dapat Diterima	14
Tabel V.1 Data Optimasi Suhu Reaksi	25
Tabel V.2 Data Hasil Optimasi Inkubasi Waktu Reaksi I	26
Tabel V.3 Data Hasil Optimasi Inkubasi Waktu Reaksi II	26
Tabel V.4 Data absorbansi seri konsentrasi larutan standar Natrium Nitrat	26
Tabel V.5 Parameter Linieritas Nitrit (NO_2^-)	28
Tabel V.6 Data Hasil Akurasi Nitrit (NO_2^-)	28
Tabel V.7 Data Presisi Interday Larutan Standar Nitrit (NO_2^-)	29
Tabel V.8 Data Hasil Presisi Ekstraday Larutan Standar Nitrit (NO_2^-)	29
Tabel V.9 Kadar Nitrit (NO_2^-) Sampel Bawang Merah	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 (a) Tanaman Bawang Merah (b) Umbi Bawang Merah	4
Gambar II.2 : Struktur Nitrit.....	7
Gambar II.3: Mekanisme Reaksi Griess.....	10
Gambar II.4: Diagram Skematik Spektrofotometer UV-Vis.....	11
Gambar II.5: Kisaran panjang gelombang suatu bahan optik transparan.....	12
Gambar V.1 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Nitrit (NO_2^-) dengan Pereaksi Griess.....	23
Gambar V.2 Spektrum Hasil Selektivitas 32 Nitrit (NO_2^-) & Nitrat (NO_3^-)	24
Gambar V.3 Hasil Reaksi Nitrit (NO_2^-) & Nitrat (NO_3^-).....	24
Gambar V.4 Kurva Kalibrasi (NO_2^-)	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Bawang Merah	35
Lampiran 2. Data Kurva Kalibrasi Nitrit.....	36
Lampiran 3. Hasil Kurva Kalibrasi.	36
Lampiran 4. Perhitungan Batas Deteksi (BD) & Batas Kuantitasi (BK)	37
Lampiran 5. Perhitungan Akurasi.....	38
Lampiran 6. Perhitungan Presisi.....	39
Lampiran 7. Perhitungan Kadar Nitrit Pada Sampel	41
Lampiran 8. Dokumentasi	42

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
ADI	<i>Acceptable Daily Intake</i>
bpj	bagian per juta
μg	mikrogram
mg	miligram
g	gram
Kg	kilogram
mL	mililiter
$^{\circ}\text{C}$	derajat celcius
ADI	<i>Acceptable Daily Intake</i>
bpj	bagian per juta
μg	mikrogram
mg	miligram

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Bawang merupakan salah satu bumbu masak yang banyak digunakan di Indonesia. Bawang dapat berperan sebagai bumbu pelezat pada masakan dan sudah lekat dengan lidah orang Indonesia. Ada beberapa jenis bawang yang dibudidayakan oleh petani Indonesia dan salah satunya yaitu bawang merah. Bawang merah merupakan salah satu bawang yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai bumbu pada masakan dan hampir digunakan setiap hari pada semua jenis makanan. Selain itu, bawang merah juga biasa digunakan masyarakat sebagai obat tradisional karena kandungan senyawa yang dimilikinya seperti sikloaliin, metialiin, kuersetin dan kaemferol yang dapat digunakan sebagai obat demam (Utami dkk., 2013).

Bawang merah juga mengandung unsur hara untuk keberlangsungan hidupnya, seperti nitrogen. Nitrogen merupakan hara makro yang penting untuk pertumbuhan pada tanaman dan diserap oleh tanaman dalam bentuk ion NO_3^- atau NH_4^+ dari dalam tanah (Rosmarkam & Yuwono, 2002). Nitrat (NO_3^-) dan nitrit (NO_2^-) merupakan ion-ion anorganik alami dalam siklus nitrogen dan merupakan hasil produk dari oksidasi nitrogen oleh aktifitas mikroba dalam tanaman, tanah, dan air. Nitrat (NO_3^-) merupakan ion nitrogen yang dapat terdegradasi menjadi ion nitrit (NO_2^-) (Romsiah & Meidalina, 2017).

Kandungan nitrit dalam tanaman dan dikonsumsi secara berlebihan dapat memberikan efek buruk bagi kesehatan, karena dapat memicu pembentukan nitrosamin melalui reaksinya dalam tubuh serta bersifat teratogenik, mutagenik dan karsinogenik. Efek buruk lainnya yaitu nitrit dapat bereaksi dengan hemoglobin dalam darah dan membentuk methemoglobin yang dapat mengganggu masuknya oksigen ke dalam sel-sel tubuh. (Habibah dkk., 2018).

Nitrit dalam bawang merah dan dikonsumsi setiap harinya melalui makanan dapat mengakumulasi kadar nitrit dalam tubuh melebihi batas aman. Menurut Peraturan Kepala BPOM RI No. 36 Tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambah Pangan Pengawet menetapkan bahwa ADI (*Acceptable Daily Intake*) natrium nitrit yaitu sebesar 0 – 0,06 mg/Kg BB. Analisis kadar nitrit dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri sinar tampak, karena metode ini memiliki kelebihan

yaitu sederhana, mudah dan biaya yang murah (Habibah dkk., 2018). Penetapan kadar nitrit dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometri dan pereaksi griess dengan prinsip pembentukan senyawa azo yang berwarna (SNI, 2004).

Bawang merah merupakan bahan yang ada di setiap masakan Indonesia dan jika kadar nitrit pada bawang merah dikonsumsi melebihi batas aman maka dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukannya analisis penetapan kadar nitrit (NO_2^-) dalam bawang merah (*Allium cepa L.*) dengan menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak dengan tujuan untuk memberikan informasi mengenai jumlah kadar nitrit dalam bawang merah.

1.2 . Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti merumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Berapa kadar nitrit pada bawang merah (*Allium cepa L.*) ?
2. Apakah kadar nitrit dalam bawang merah berada dalam ambang batas aman sesuai nilai ADI?

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

1. Penelitian dilakukan untuk menentukan kadar nitrit yang terdapat dalam bawang merah (*Allium cepa L.*).
2. Untuk menentukan kandungan nitrit masih berada dalam ambang batas aman untuk dikonsumsi sesuai dengan nilai ADI (*Acceptable Daily Intake*).

1.4. Hipotesis penelitian

Diduga tanaman bawang merah mengandung nitrit yang berfungsi sebagai nutrisi untuk pertumbuhan pada tanaman namun dapat memberikan efek toksik pada tubuh.

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini mulai dilakukan pada bulan Februari 2020 di laboratorium Fakultas Farmasil Universitas Bhakti Kencana Bandung Jl. Soekarno Hatta No.754, Bandung.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Bawang Merah

Bawang merah (*Allium cepa L.*) merupakan tanaman yang termasuk ke dalam golongan sayuran rempah (Berlian & Rahayu, 2004). Bawang merah merupakan tanaman umbi lapis yang tumbuh merumpun dan memiliki tinggi sekitar 40-70 cm. Bawang merah memiliki beberapa variasi bentuk umbi lapis seperti bulat, bundar seperti gasing, terbalik bahkan pipih. Ukuran dari bawang merah ada yang besar, sedang dan kecil. Umbi lapis bawang merah memiliki berbagai warna seperti berwarna putih, kuning, merah muda, merah ataupun merah keunguan (Jaelani, 2007).

II.1.1 Taksonomi

Tanaman Bawang merah memiliki kedudukan tata nama yang termasuk ke dalam kingdom plantae, divisi spermatophyta, subdivisi angiospermae, kelas monocotyledonae, ordo liliales, famili liliaceae, genus *Allium*, species *Allium cepa L.* (Fajjriyah, 2017).



(a)

(b)

Gambar II.1 : (a) Tanaman Bawang Merah (b) Umbi Bawang Merah
(Dokumentasi Pribadi)

II.1.2 Morfologi

Tanaman bawang merah merupakan tanaman dengan bentuk rumput tegak dan memiliki tinggi mencapai 15-50 cm dan membentuk rumpun. Memiliki akar berbentuk serabut pendek yang menyebabkan bawang merah termasuk tanaman yang tahan kering. Umbi bawang merah memiliki berbagai bentuk seperti bentuk bulat kecil memanjang, ada pula dengan bentuk setengah lingkaran pada penampang melintang

daun. Pada bagian ujungnya berbentuk runcing dan memiliki bentuk melebar membengkok pada bagian bawahnya (Berlian & Rahayu, 2004).

Bawang merah memiliki kelopak daun yang melingkar menutup kelopak daun bagian dalam. Pada bagian pangkal umbi berbentuk cakram yang merupakan batang pokok dan tumbuh akar-akar serabut. Pada cakram bagian atas terdapat mata tunas yang disebut tunas lateral yang dapat tumbuh menjadi tanaman baru. Lalu terdapat mata tunas utama atau yang disebut tunas apikal pada bagian tengah cakram yang nantinya akan tumbuh menjadi bunga. Tunas lateral yang terdapat pada bawang merah selanjutnya akan membentuk cakram baru dan kemudian akan menumbuhkan umbi lapis baru. Maka dengan cara seperti ini bawang merah dapat membentuk tanaman rumpun (Berlian & Rahayu, 2004).

Bawang merah memiliki bunga yang tersusun membentuk lingkaran seperti payung. Terdapat pada bagian ujung tangkai daun yang keluar dari ujung tanaman pada titik tumbuh. Setiap kuntum terdapat 5-6 helai bunga dengan warna putih, 6 benang sari berwarna hijau kekuningan, 1 putik serta bakal buah yang berbentuk segitiga. Buah memiliki bentuk bulat dan tumpul di bagian ujung membungkus biji. Bentuk biji sedikit pipih, saat muda biji berwarna bening atau putih dan saat tua menjadi hitam (Rukmana, 1994).

II.1.3 Varietas

Di Indonesia, para petani memproduksi beberapa varietas bawang merah. Varietas bawang merah dibedakan berdasarkan beberapa faktor dan dapat dilihat pada tabel II.1

Tabel II.1 Varietas Bawang Merah
(Cahyono & Samadi, 2005)

No.	Varietas	Asal Daerah	Umur Panen	Bentuk
1.	Bima Brebes	Brebes	60-70 hari	lonjong
2.	Ampenan	Ampenan, Bali	60-70 hari	lonjong
3.	Sumenep	Sumenep. Madura	70 hari	-
4.	Bali Ijo	Malang	80-90 hari	Bulat
5.	Bawang Australia	Australia	65-70 hari	besar dan bulat
6.	Bawang Medan	Medan	80 hari	runcing
7.	Bawang Bangkok	Thailand	59-65 hari	sedikit bulat
8.	Bawang Filipina	Filipina	60 hari	bulat dan besar
9.	Bawang Kuning	Sidapurna, Brebes	80 hari	Bulat
9.	Bawang Keling	Majalengka	70 hari	bulat sedikit gepeng
10.	Bali	Bali	80-90 hari	Bulat

II.1.4 Komposisi Kimia

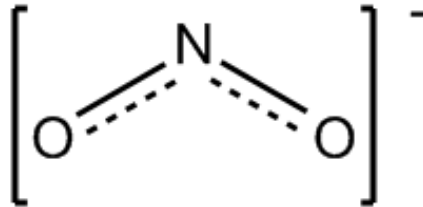
Bawang merah memiliki beberapa kandungan zat gizi dan non gizi (fitokimia). Zat gizi yang ada dalam bawang merah dapat dimanfaatkan oleh tubuh untuk menyediakan energi, membangun jaringan, serta mengatur fungsi tubuh. Senyawa fitokimia seperti allisin, alliin, flavonol, flavonoid, kuersetin, saponin dan lainnya memiliki efek farmakologi untuk penyembuhan penyakit (Jaelani, 2007). Komposisi bawang merah terdapat dalam tabel II.2

Tabel II.2 Komposisi Kimia Bawang Merah Per 100 g Bahan
(Berlian & Rahayu, 2004)

Komponen	Komposisi
Air (g)	88
Karbohidrat (g)	9,2
Protein (g)	1,5
Lemak (g)	0,3
Vitamin B1 (mg)	0,03
Vitamin C (mg)	2
Kalsium, Ca (mg)	36
Besi, Fe (mg)	0,8
Fosfor, P (mg)	40
Energi (kalori)	39
Bahan yang dapat dimakan (%)	90,99

II.2 Nitrit

Nitrit merupakan ion yang memiliki rumus kimia NO_2^- dan termasuk ke dalam anion dengan ikatan nitrogen dengan oksigen (N-O). Nitrit merupakan bahan berwarna putih kekuningan berbentuk granular serta tidak berbau (Pulungan, 2019).



Gambar II.2 : Struktur Nitrit
(Pulungan, 2019)

II.2.1 Nitrit dalam Tanaman

Nitrogen dalam tanaman termasuk dalam faktor yang sering mempengaruhi produktivitas tanaman. Nitrogen merupakan nutrisi penting bagi tanaman karena diperlukan untuk berbagai komponen seperti protein, vitamin, hormon, enzim, DNA dan RNA (Ranasinghe, 2018). Tanaman tidak dapat langsung menggunakan nitrogen dalam bentuk alamnya, melainkan berubah dalam bentuk amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-) agar dapat diserap oleh akar dalam tanah (Ohyama, 2010).

Nitrat (NO_3^-) dan amonium (NH_4^+) merupakan sumber utama nitrogen bagi setiap tanaman. Nitrat memiliki sifat mobil dalam tanaman dan disimpan pada organel vakuola tumbuhan untuk digunakan dalam sintesis protein atau senyawa organik lainnya. Sebelumnya nitrat harus direduksi terlebih dahulu menjadi amonium. Nitrat dapat berubah menjadi nitrit dengan bantuan sebuah enzim yaitu nitrat reduktase pada bagian yang bukan organel dalam sitoplasma. Setiap sel hidup dalam tanaman memiliki kemampuan mereduksi nitrat menjadi nitrit (Ginting, 2014).

Pada proses reduksi nitrat menjadi nitrit ataupun nitrit menjadi ion amonium memerlukan cahaya matahari. Dengan adanya cahaya matahari yang bekerja melalui proses fotosintesis, dapat meningkatkan aktivitas kerja dari enzim nitrat reduktase (Sirait, 2006). Nitrat direduksi menjadi nitrit oleh nitrat reduktase yang terdapat dalam

kloroplas dengan menggunakan energi (ATP) dan reduktan (NADP, NADPH) dari hasil fotosintesis (Ginting, 2014).

II.2.2 Akumulasi Nitrit

Nitrat bergerak dari tanah menuju permukaan akar dengan cara konveksi dibandingkan dengan cara difusi, maka jika kekurangan air akan membatasi penyerapan dari nitrat. Nitrat dapat ditemukan dalam sel vakuola yang diangkut oleh xilem. Xilem akan membawa nutrisi serta air dari akar menuju daun, dan floem akan membawa produk hasil fotosintesis dari daun menuju titik pertumbuhan. Proses tersebut dapat mempengaruhi distribusi nitrat antara organ daun dengan organ penyimpanan seperti umbi atau biji (EFSA, 2008).

Akumulasi nitrat yang tinggi dalam tanaman akan menyebabkan produksi nitrit dalam sitoplasma. Nitrit diangkut ke kloroplas oleh transport nitrit dan kemudian direduksi menjadi amonia oleh nitrit reduktase. Beberapa faktor utama yang dapat mempengaruhi laju reduksi nitrat oleh nitrat reduktase adalah faktor genetik, induksi substrat, dan pasokan elektron dari NADPH (Ranasinghe & Marapana, 2018).

Konsentrasi nitrat dalam tanaman tergantung pada beberapa faktor, yaitu seperti jenis tanah, intensitas cahaya, genetik dan faktor lainnya. Kandungan nitrat dalam tanaman akan memiliki konsentrasi yang berbeda pada setiap bagian tanamannya, kadar yang tinggi dimulai dari bagian tangkai daun > daun > batang > akar > perbungaan > umbi > buah > benih seperti yang tercantum pada tabel II.3 (Santamaria, 2006).

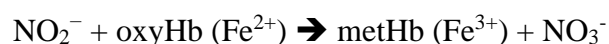
Tabel II. 3 Klasifikasi Sayuran Menurut Kandungan Nitratnya (mg kg⁻¹ fm)
(Santamaria, 2006)

Sangat Rendah (<200)	Rendah (200-500)	Sedang (500-1000)	Tinggi (1000-2500)	Sangat Tinggi (>2500)
Artichoke	Brokoli	Kol	Sereal	Seledri
Asparagus	Wortel	Brokoli	Kol cina	Chervil
Kacang-kacangan	Kol	Radicchio	Andewi	Cress
Terong	Mentimun	Kubis	Escarola	Selada
Bawang Putih	Labu	Lobak cina	Adas	Radish
Bawang Merah			Kohlrabi	Umbi Merah
Kacang Hujau			Bawang perai	Rocket
Melon			Paterseli	Caisim
Jamur				Bit Swiss
Kacang polong				
Lada				
Kentang				
Ketela				
Semangka				
Tomat				

II.2.3. Bahaya Nitrit

Nitrit dalam tanaman berkaitan erat dengan keberadaan nitrat. Adanya nitrat dalam tanaman, air ataupun makanan lainnya merupakan suatu ancaman yang serius untuk kesehatan tubuh manusia. Semua nitrat yang masuk dan tertelan dapat dikonversi oleh air liur dan saluran pencernaan menjadi nitrit yang beracun. Nitrit dalam tanaman diperoleh dari hasil reduksi nitrat oleh enzim bakteri nitrit (Santamaria, 2006).

Senyawa nitrit dan N-nitroso yang terbentuk ketika nitrit berikatan dengan zat lain sebelum atau sesudah dikonsumsi bersifat racun dan dapat menyebabkan patologi yang cukup parah pada tubuh manusia. Sumber zat berbahaya tersebut dapat berasal dari eksogen namun dapat pula pembentukannya secara endogen. Salah satu efek berbahaya dari nitrit yaitu memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan hemoglobin (oxyHb) membentuk methaemoglobin (metHb) dan nitrat (Santamaria, 2006).



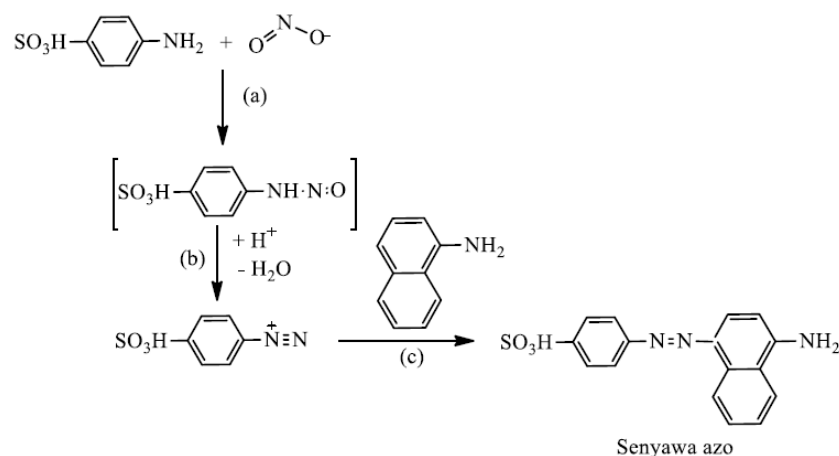
Akibat dari reaksi tersebut dapat menyebabkan pengiriman oksigen ke jaringan menjadi terganggu. Ketika metHb telah mencapai 10% dari kadar Hb normal, maka akan timbul

gejala klinis yaitu perubahan warna pada kulit menjadi biru hingga dirasakan lemas. Jika hal tersebut terjadi akan berakibat fatal atau disebut sebagai methaemoglobinaemia (Santamaria, 2006). Selain itu nitrit yang sudah masuk dalam tubuh dapat bereaksi dengan amino, dengan reaksi yang lambat hingga membentuk berbagai jenis nitrosamin yang pada umumnya memiliki sifat karsinogenik. Nitrosodimetilamin merupakan salah satu senyawa beracun bagi hati dan dapat menyebabkan kerusakan hati pada hewan dan termasuk pada manusia (Pulungan, 2019).

Menurut Peraturan Kepala BPOM RI No. 36 Tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pengawet menetapkan bahwa ADI natrium nitrit yaitu sebesar 0 – 0,06 mg/Kg BB. Sedangkan untuk tingkat efek samping yang diamati (NOAEL) dari nitrit ditemukan yaitu sebesar 10 ppm atau 1,0 mg / kg bb / hari (IRIS, 2002) .

II.3 Analisis Nitrit

Analisis kadar nitrit dapat dilakukan dengan menggunakan metode Griess secara spektrofotometri. Prinsip penetapan kadar nitrit dengan metode griess adalah reaksi diazotasi antara nitrit (dari nitrit dalam suasana asam) dengan amin aromatis primer (asam sulfanilat). Hasil reaksi diazotasi berupa garam diazonium yang selanjutnya direaksikan (dikopling) dengan alfa-naftilamin membentuk senyawa berwarna yang dapat diukur pada panjang gelombang 520 nm. Agen pengkopling lain yang dapat digunakan yaitu naffieilendiamin (NED) (Rohman & Sumantri, 2017).



Gambar II.3: Mekanisme Reaksi Griess

(Habibah dkk., 2018)

II.4 Spektrofotometer UV-Vis

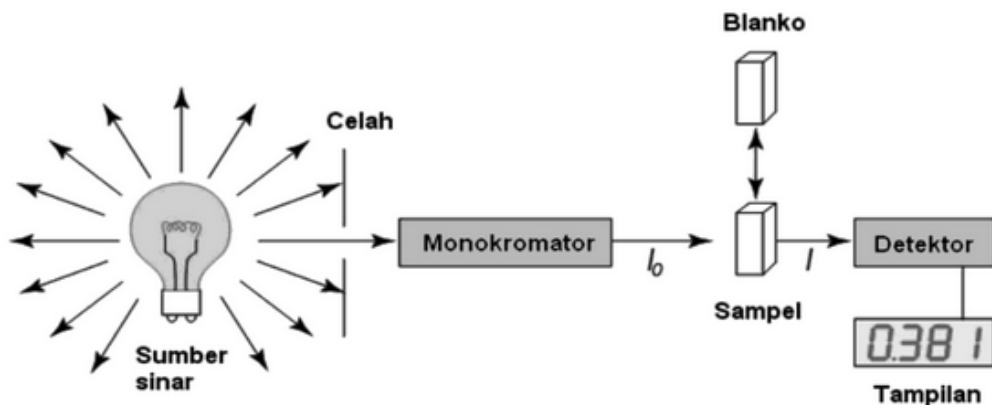
Spektrofotometer merupakan instrumen alat yang memberikan informasi mengenai intensitas sinar yang diserap atau ditransmisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Baik spektrofotometer berkas tunggal atau berkas ganda, digunakan dalam serapan molekuler. Pada umumnya instrumen komersial pada spektrofotometer serapan adalah sistem berkas ganda.

II.4.1 Prinsip Kerja

Prinsip dari instrumen ini yaitu sumber cahaya akan memancarkan cahaya melalui monokromator yang akan menguraikan sinar yang masuk dari sumber cahaya dan akan menjadi pita-pita panjang gelombang yang diinginkan. Pada metode spektrofotometri, hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan sampel yang merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat (Rohman & Sumantri, 2017).

II.4.2 Sistem Instrumen Spektrofotometer UV-Vis

Pada instrumen spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan visible. Instrumen ini terdiri dari suatu sistem optik yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm.



Gambar II.4: Diagram Skematik Spektrofotometer UV-Vis

(Gandjar & Rohman, 2018)

II.4.3 Instrumen Spektrofotometer UV-Vis

1. Sumber Sinar

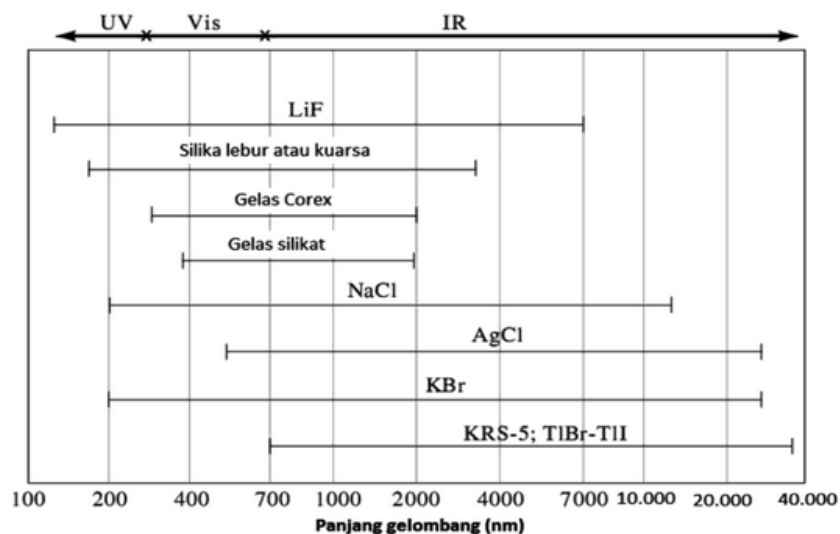
Sumber sinar utama yang digunakan pada spektroskopi yaitu sumber sinar kontinu dan sumber garis. Sumber sinar kontinu mengemisikan sinar dengan intensitas kontinu dan relatif stabil pada kisaran panjang gelombang yang luas, dan umum digunakan pada instrumen spektrofotometrik serapan molekuler ataupun pada fluoresensi (Gandjar & Rohman, 2018).

2. Monokromator

Untuk analisis secara kuantitatif, sinar yang digunakan harus memiliki sifat monokromatik yaitu sinar dengan satu panjang gelombang tertentu. Hal tersebut dapat terjadi dengan cara melewati sinar polikromatik, yaitu sinar dengan beberapa panjang gelombang, yang melalui suatu monokromator. Beberapa elemen suatu monokromator terdiri dari elemen pendispersi, celah masuk (entance slit), dan celah keluar (exit slit). Fungsi elemen pendispersi yaitu untuk mendispersikan radiasi yang jatuh kepadanya sesuai dengan panjang gelombang (Gandjar & Rohman, 2018).

3. Kuvet

Sel atau kuvet yang digunakan sebagai wadah sampel harus mempunyai jendela yang transparan pada daerah yang dituju. Berbagai kisaran transmitans untuk bahan optik menunjukkan kisaran panjang gelombang fungsional untuk berbagai bahan optik yang digunakan pada daerah UV, sinar tampak serta inframerah (Gandjar & Rohman, 2018).



Gambar II.5: Kisaran panjang gelombang suatu bahan optik transparan.

(Gandjar & Rohman, 2018)

Kuarsa atau silika lebur digunakan untuk daerah UV atau pada panjang gelombang kurang dari 350 nm. Sedangkan pada gelas borosilikat umumnya digunakan untuk menganalisis sampel pada daerah 375-2000 nm dan harga lebih murah dibandingkan dengan kuarsa. Kuvet terbaik untuk digunakan jika kuvet tegak lurus dengan arah berkas sinar . Ukuran tebal kuvet yang biasanya digunakan yaitu 1 cm (Gandjar & Rohman, 2018).

4. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengukur intensitas radiasi yang melewatinya. Ada 2 jenis detektor yaitu yang mempunyai respon terhadap foton dan yang mempunyai respon terhadap panas (Gandjar & Rohman, 2018).

II.5 Validasi Metode

Validasi metode merupakan suatu rangkaian prosedur untuk memenuhi standar eksperimental tes dengan beberapa penilaian terhadap parameter berdasarkan percobaan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa suatu metode analisis sudah sesuai dan memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Beberapa parameter dari validasi metode yaitu:

II.5.1 Kecermatan (Akurasi)

Kecermatan atau akurasi merupakan ukuran kedekatan hasil dari analisis yang dilakukan dengan analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*Recovery*) dari analit yang ditambahkan dan dapat dihitung dengan rumus:

$$Recovery = \frac{Kadar\ Terukur}{Kadar\ Sebenarnya} \times 100\%$$

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kecermatan adalah sebaran galat sistematis seluruh tahap dalam analisis. Maka dari itu galat harus dihindari dengan cara menggunakan alat yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi serta pelarut yang baik, dan lainnya (Harmita, 2004).

Terdapat dua cara untuk menentukan parameter akurasi yaitu dengan menggunakan metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan baku (*standards*

addition method). Pada metode simulasi dilakukan dengan cara analit bahan murni ditambahkan dalam campuran bahan pembawa yang selanjutnya dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan, sedangkan pada metode penambahan baku dengan cara sampel dianalisis terlebih dahulu lalu sampel yang dianalisis ditambahkan sejumlah analit dan dicampurkan lalu dianalisis kembali (Harmita, 2004).

Tabel II.4 Rentang Rata-Rata % Recovery yang Dapat Diterima
(Harmita, 2004)

Analit pada matriks sampel (%)	Rata-rata recovery yang diperbolehkan
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%

II.5.2 Keseksamaan (Presisi)

Keseksamaan atau dapat pula disebut presisi merupakan parameter yang menyatakan kesesuaian antara hasil uji individual yang diukur melalui penyebaran dari rata-rata dan dilakukan secara berulang pada suatu sampel. Presisi dapat diukur sebagai simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi dapat dikatakan sebagai keterulangan atau ketertiruan. Keterulangan merupakan metode yang jika dilakukan secara berulang kali oleh seorang analis dan kondisi yang sama dengan interval waktu yang pendek, sedangkan ketertiruan merupakan metode yang dikerjakan pada kondisi yang berbeda-beda. Presisi memenuhi syarat jika memberikan hasil simpangan baku relatif atau koefisien variansi 2 % ataupun kurang. Namun kriteria tersebut dapat fleksibel karena tergantung pada beberapa faktor seperti konsentrasi analit, jumlah sampel dan kondisi laboratorium yang digunakan (Harmita, 2004).

Presisi dapat dihitung dengan cara:

a. Simpangan Baku (Standar Deviasi)

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

b. Simpangan Baku Relatif (Koefisien Variasi)

$$KV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$$

II.5.3 Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan dari suatu metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau setiap adanya perubahan yang terjadi pada salah satu variabel maka akan diikuti dengan perubahan dengan jumlah yang sama dan sejajar pada variabel lainnya. Linieritas dihitung secara matematik dari data analit dalam sampel yang diperoleh dan dinyatakan dalam garis regresi. Jumlah minimal sampel yang dianalisis yaitu sekurang-kurangnya berjumlah delapan blanko. Parameter pada linieritas yaitu digunakan koefisien korelasi atau r pada regresi linier $Y = a + bX$. Parameter linieritas dapat dikatakan baik jika memiliki nilai $b = 0$ dan nilai $r = +1$ atau -1 tergantung dari arah garis, sedangkan nilai a menyatakan suatu kepekaan dari analisis terutama alat atau instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

II.5.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deketeksi termasuk ke dalam linieritas yang menyatakan konsentrasi terkecil suatu analit pada sampel yang masih dapat dideteksi serta memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Sedangkan batas kuantitas merupakan kuantitas terkecil dari analit pada sampel yang masih memenuhi kriteria. Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat ditentukan dari garis regresi linier dari kurva kalibrasinya yang telah dibuat sebelumnya (Harmita, 2004).

a. Batas Deteksi dapat dihitung dengan rumus:

$$Q = \frac{3 Sy/x}{\bar{S}l}$$

b. Batas Kuantitasi dapat dihitung dengan cara:

$$Q = \frac{10 Sy/x}{\bar{S}l}$$

II.6 Selektivitas

Selektivitas atau spesifisitas merupakan parameter validasi untuk mengetahui suatu kemampuan metode yang hanya dapat mengukur zat analit tertentu saja dengan cermat dan seksama dengan adanya komponen lain di dalam suatu sampel. Penentuan selektivitas dapat ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung analit dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan analit atau senyawa lain yang sejenis (Harmita, 2004).