

**PENETAPAN KADAR KALSIUM DALAM IKAN TERI (*Stolephorus sp.*)
MENGUNAKAN METODE PERMANGANOMETRI,
KOMPLEKSOMETRI DAN SPEKTROFOTOMETRI
SERAPAN ATOM**

SKRIPSI



I WAYAN BAGUS ADIGUNAWAN

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
2019**

**PENETAPAN KADAR KALSIUM DALAM IKAN TERI (*Stolephorus sp.*)
MENGUNAKAN METODE PERMANGANOMETRI,
KOMPLEKSOMETRI DAN SPEKTROFOTOMETRI
SERAPAN ATOM**

**Skripsi ini diajukan
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Terapan**



**Oleh:
I WAYAN BAGUS ADIGUNAWAN
NIM. P27834118077**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
2019**

LEMBAR PERSETUJUAN

**PENETAPAN KADAR KALSIMUM DALAM IKAN TERI (*Stolephorus sp.*)
MENGUNAKAN METODE PERMANGANOMETRI,
KOMPLEKSOMETRI DAN SPEKTROFOTOMETRI
SERAPAN ATOM**

Oleh:

I WAYAN BAGUS ADIGUNAWAN
NIM. P27834118077

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui isi dan susunannya,
sehingga dapat diajukan pada Sidang Skripsi yang
diselenggarakan oleh Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya**

Surabaya, Juni 2019
Menyetujui:

Pembimbing I



Ayu Puspitasari, S.T., M.Si
NIP. 19800325 200501 2 003

Pembimbing II



Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes
NIP. 19580317 198603 2 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya



Drs. Edy Hartanto, M.Kes
NIP. 19640316 198302 1 001

LEMBAR PENGESAHAN

**PENETAPAN KADAR KALSIMUM DALAM IKAN TERI (*Stolephorus sp.*)
MENGUNAKAN METODE PERMANGANOMETRI,
KOMPLEKSOMETRI DAN SPEKTROFOTOMETRI
SERAPAN ATOM**

Oleh :

I WAYAN BAGUS ADIGUNAWAN
NIM. P27834118077

Skripsi ini telah dipertahankan di hadapan
Tim Penguji Skripsi Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma 4
Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya

Surabaya, Juni 2019

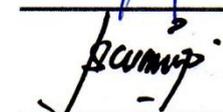
Tim Penguji,

Tanda Tangan

Penguji I : Ayu Puspitasari, S.T., M.Si
NIP. 19800325 200501 2 003



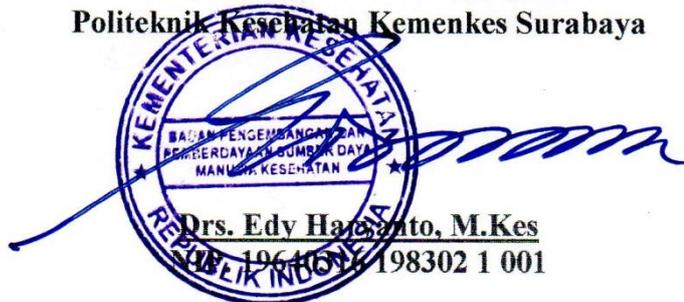
Penguji II : Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes
NIP. 19580317 198603 2 002



Penguji III : Suhariyadi, S.Pd., M.Kes
NIP. 19680829 198903 1 003



Mengetahui,
Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya



Drs. Edy Hapsanto, M.Kes
NIP. 19640514 198302 1 001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“Majulah Tanpa Menyingkirkan, Naiklah Tinggi Tanpa Menjatuhkan”

Sujud syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha

Esa, karena atas berkat dan karunia-Nya, Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Terimakasih Ida Sang Hyang Widhi Wasa, senantiasa memberikan jalan dan tuntunan di setiap langkah dan selalu menyertai dalam setiap waktu.

Terimakasih kepada ibu Ayu Puspitasari, S.T., M.Si dan ibu Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes yang telah membimbing, meluangkan waktu, menuangkan pikiran, memberikan masukan dan membantu saya selama proses penulisan Skripsi ini.

Terimakasih kepada orang tua saya I Nyoman Sudiarta dan Ni Made Santini yang telah memberikan motivasi dan selalu memberikan dukungan disetiap langkah yang saya putuskan.

Tidak lupa saya ucapkan terimakasih kepada sahabat dan teman-teman D4 Alih Jenjang Analis Kesehatan atas solidaritas, semangat, bantuan serta perjuangan kita bersama sampai pada tahap ini serta teman-teman JAK 15 Poltekkes Kemenkes Denpasar yang memberikan dukungan untuk melanjutkan pendidikan di Poltekkes Kemenkes Surabaya.

Skripsi ini saya persembahkan kepada semua orang yang telah memberikan semangat serta dukungan moril maupun materi dan doa yang tiada henti terucap untuk kesuksesan saya.

ABSTRACT

*Calcium is one of the essential nutrients needed for various bodily functions. Calcium has various functions such as reduce blood pressure, hormone regulation, blood clotting, and other functions. One of food that contains calcium is anchovy (*Stolephorus sp.*). In determining calcium levels in food, the analytical method commonly used is atomic absorption spectrophotometry and titrimetric.*

This research is a descriptive observational study aimed to comparing and knowing whether there were differences in calcium levels in anchovy determined by permanganometry, complexometry, and atomic absorption spectrophotometry. This research was conducted at the Laboratory of Water, Food and Beverage Chemistry, Department of Health Analyst, Surabaya Health Polytechnic and Surabaya Health Laboratory Center from December 2018 to June 2019. The results of calcium determination using permanganometric method obtained an average of 1660.97 mg/Kg, complexometry 1230.23 mg/Kg, and atomic absorption spectrophotometry 1248.75 mg/Kg.

The results of the calcium determination by permanganometric method obtained higher results than complexometry and atomic absorption spectrophotometry method, that value can be concluded there were significant differences in calcium levels from the three methods. The Least Significant Different Test showed the results of calcium determination by permanganometry different than complexometry and atomic absorption spectrophotometry method, meanwhile between complexometry methods and atomic absorption spectrophotometry there were no significant differences. The difference in the results of calcium content determination with the three methods is influenced by differences in the ability of the method in analyzing the levels of analytes in the sample which can be shown by the value of accuracy, precision, linearity, sensitivity and specificity of the analysis method.

Keyword: *Permanganometry, Complexometry, Atomic Absorption Spectrophotometry, Anchovy, Calcium.*

ABSTRAK

Kalsium merupakan salah satu nutrisi esensial yang dibutuhkan untuk berbagai fungsi tubuh. Kalsium berfungsi untuk menurunkan tekanan darah, regulasi hormon, pembekuan darah, dan berbagai fungsi lainnya. Salah satu bahan pangan yang mengandung kalsium adalah ikan teri (*Stolephorus sp.*). Dalam menentukan kadar kalsium dalam bahan pangan, metode analisis yang umum digunakan adalah spektrofotometri serapan atom dan titrimetri.

Penelitian ini bersifat observasional deskriptif yang bertujuan membandingkan dan mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar kalsium dalam ikan teri yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Air, Makanan dan Minuman Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya dari bulan Desember 2018 sampai Juni 2019. Hasil penetapan kadar kalsium menggunakan metode permanganometri diperoleh rata-rata 1660,97 mg/Kg, kompleksometri 1230,23 mg/Kg, dan spektrofotometri serapan atom 1248,75 mg/Kg.

Hasil penetapan kadar dengan metode permanganometri memberikan hasil yang lebih tinggi dari metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan kadar kalsium yang signifikan dari ketiga metode tersebut. Uji *Least Significant Different* menunjukkan hasil penetapan kadar kalsium metode permanganometri berbeda terhadap kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sedangkan antara metode kompleksometri terhadap spektrofotometri serapan atom tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Perbedaan hasil penetapan kadar kalsium dengan ketiga metode tersebut dipengaruhi oleh perbedaan kemampuan metode dalam menganalisa kadar analit dalam sampel yang dapat ditunjukkan oleh nilai akurasi, presisi, linieritas, sensitivitas dan spesifitas metode analisis.

Kata Kunci: Permanganometri, Kompleksometri, Spektrofotometri Serapan Atom, Ikan Teri, Kalsium.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **Penetapan Kadar Kalsium Dalam Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri Dan Spektrofotometri Serapan Atom** dengan baik.

Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Diploma 4 Alih Jenjang Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya. Skripsi ini dapat diselesaikan bukan hanya karena usaha penulis sendiri melainkan berkat bantuan, dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak demi penyempurnaan Skripsi ini. Besar harapan penulis agar Skripsi ini bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, Juni 2019

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Penyusunan Skripsi ini dapat diselesaikan bukan hanya karena usaha penulis sendiri melainkan berkat bantuan, dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. Edy Haryanto, M.Kes selaku Ketua Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya yang selalu memberikan nasihat dan perhatiannya kepada penulis.
2. Ibu Retno Sasongkowati, S.Pd., S.Si., M.Kes selaku Ketua Program Studi Diploma 4 Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya yang juga selalu memberikan nasihat dan perhatiannya kepada penulis.
3. Ibu Ayu Puspitasari, S.T., M.Si selaku dosen pembimbing I yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan berbagai masukan, kritik, dan saran yang sangat membangun selama penyusunan Skripsi ini.
4. Ibu Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes selaku dosen pembimbing II yang juga selalu memberikan bimbingan, kritik dan saran dalam penyusunan Skripsi ini.
5. Suhariyadi, S.Pd., M.Kes selaku dosen penguji yang bersedia memberikan kritik dan saran dalam penyusunan Skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh staf Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya, yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan selama penulis mengikuti pendidikan.
7. Bapak, Ibu, adik dan seluruh keluarga yang telah menjadi motivasi, memberikan doa, dukungan, perhatian, dorongan dan semangat untuk menyelesaikan Skripsi ini.

8. Teman-teman mahasiswa Diploma 4 program Alih Jenjang 2018 Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya, terimakasih atas perhatian, dukungan, dan kebersamaannya selama setahun ini.
9. Pihak lain yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan Skripsi ini.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
ABSTRACT	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMAKASIH	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan	5
1.4.1 Tujuan Umum	5
1.4.2 Tujuan Khusus	5
1.5 Manfaat	5
1.5.1 Manfaat Praktis	5
1.5.2 Manfaat Teoritis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Kalsium	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Fungsi Kalsium	8
2.1.3 Sumber Kalsium.....	8
2.1.4 Kondisi Akibat Kekurangan dan Kelebihan Kalsium.....	8
2.2 Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>).....	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Teri	9
2.2.2 Kandungan Ikan Teri.....	10
2.2.3 Manfaat Ikan Teri.....	11
2.3 Metode Permanganometri	13
2.3.1 Definisi dan Prinsip.....	13
2.3.2 Penentuan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri.....	16
2.4 Metode Kompleksometri.....	17
2.4.1 Definisi dan Prinsip.....	17
2.4.2 Jenis-jenis Titrasi Kompleksometri.....	19
2.5 Metode Spektrofotometri Serapan Atom	21
2.5.1 Definisi dan Fungsi	21
2.5.2 Instrumentasi Spektrofotometer Serapan Atom	21
2.5.3 Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometri Serapan Atom	24
2.5.4 Gangguan-Gangguan pada Spektrofotometri Serapan Atom.....	27
2.6 Validasi Metode Analisis	30
BAB 3 KERANGKA KONSEP	36
3.1 Kerangka Konsep	36

3.2	Penjelasan Kerangka Konsep	37
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN		38
4.1	Jenis Penelitian.....	38
4.2	Populasi dan Sampel	38
4.2.1	Populasi Penelitian	38
4.2.2	Sampel Penelitian.....	38
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	39
4.4	Variabel Penelitian	39
4.4.1	Variabel Bebas	39
4.4.2	Variabel Terikat	39
4.5	Definisi Operasional Variabel.....	40
4.6	Pengumpulan Data	41
4.7	Alat dan Bahan.....	41
4.7.1	Alat.....	41
4.7.2	Bahan.....	41
4.8	Prosedur Penelitian.....	42
4.8.1	Persiapan reagen.....	42
4.8.2	Preparasi sampel.....	46
4.8.3	Penetapan Kadar Kalsium	47
4.9	Analisis Data	58
4.10	Kerangka Operasional	60
4.10.1	Preparasi Sampel Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>).....	60
4.10.2	Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Permanganometri	61
4.10.3	Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Kompleksometri.....	62
4.10.4	Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Spektrofotometri Serapan Atom	63
4.10.5	Validasi Metode Analisis Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom	64
BAB 5 HASIL PENELITIAN		65
5.1	Persiapan Sampel dan Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri.....	65
5.1.1	Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Permanganometri.....	66
5.1.2	Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Kompleksometri	66
5.1.3	Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	67
5.2	Perbandingan Kadar Kalsium dan Analisis Data	68
5.2.1	Uji Normalitas	69
5.2.2	Uji <i>One Way Anova</i>	70
5.2.3	Uji <i>Least Significant Different</i>	72
5.3	Akurasi Metode	72
5.3.1	Metode Permanganometri	73
5.3.2	Metode Kompleksometri.....	73
5.3.3	Metode Spektrofotometri Serapan Atom	74
5.3.4	Perbandingan Akurasi Metode	75
5.4	Presisi Metode.....	75
5.4.1	Metode Permanganometri	75
5.4.2	Metode Kompleksometri.....	76

5.4.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom	77
5.4.4 Perbandingan Presisi Metode	78
5.5 Linieritas Metode	78
5.5.1 Metode Permanganometri	79
5.5.2 Metode Kompleksometri.....	80
5.5.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom	82
5.5.4 Perbandingan Linieritas Metode	83
5.6 <i>Limit Of Detection</i> dan <i>Limit Of Quantification</i> Metode	84
5.6.1 Metode Permanganometri	84
5.6.2 Metode Kompleksometri.....	85
5.6.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom	85
5.6.4 Perbandingan <i>Limit Of Detection</i> dan <i>Limit Of Quantification</i> Metode ...	86
BAB 6 PEMBAHASAN	87
6.1 Analisa Kadar Kalsium Pada Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>)	87
6.1.1 Analisa Kadar Kalsium dengan Metode Permanganometri.....	88
6.1.2 Analisa Kadar Kalsium dengan Metode Kompleksometri.....	93
6.1.3 Analisa Kadar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	95
6.2 Analisis perbedaan kadar kalsium dalam ikan teri yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri, dan spektrofotometri serapan atom.....	97
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	105
7.1 Kesimpulan	105
7.2 Saran.....	105
DAFTAR PUSTAKA	107
LAMPIRAN	113

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri.....	66
Tabel 5.2	Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Kompleksometri	67
Tabel 5.3	Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom	67
Tabel 5.4	Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom	68
Tabel 5.5	Hasil Penetapan Nilai Akurasi Metode Permanganometri	73
Tabel 5.6	Hasil Penetapan Nilai Akurasi Metode Kompleksometri.....	73
Tabel 5.7	Hasil Penetapan Nilai Akurasi Metode Spektrofotometri Serapan Atom	74
Tabel 5.8	Hasil Penetapan Nilai Presisi dari Metode Permanganometri.....	76
Tabel 5.9	Hasil Penetapan Nilai Presisi dari Metode Kompleksometri...	76
Tabel 5.10	Hasil Penetapan Nilai Presisi dari Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	77
Tabel 5.11	Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Standar Kalsium dengan Metode Permanganometri	79
Tabel 5.12	Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Standar Kalsium dengan Metode Kompleksometri	81
Tabel 5.13	Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Standar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	82
Tabel L.1	Data Volume Titran (KMnO_4) dan Hasil Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Permanganometri.....	117
Tabel L.2	Data Volume Titran (Na_2EDTA) dan Hasil Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Kompleksometri.....	117
Tabel L.3	Data absorbansi dan Hasil Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	118
Tabel L.4	Data % <i>Recovery</i> Uji Akurasi Metode Permanganometri.....	118
Tabel L.5	Data % <i>Recovery</i> Uji Akurasi Metode Kompleksometri.....	119
Tabel L.6	Data % <i>Recovery</i> Uji Akurasi Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	120
Tabel L.7	Data Uji Presisi Metode Permanganometri.....	121
Tabel L.8	Data Uji Presisi Metode Kompleksometri.....	121
Tabel L.9	Data Uji Presisi Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	121
Tabel L.10	Data Uji Linieritas Metode Permanganometri.....	122
Tabel L.11	Data Uji Linieritas Metode Kompleksometri.....	122
Tabel L.12	Data Uji Linieritas Metode Spektrofotometri Serapan Atom	123
Tabel L.13	Data Uji <i>Limit of detection</i> dan <i>Limit of quantification</i> Metode Permanganometri.....	123
Tabel L.14	Data Uji <i>Limit of detection</i> dan <i>Limit of quantification</i> Metode Kompleksometri.....	123
Tabel L.15	Data Uji <i>Limit of detection</i> dan <i>Limit of quantification</i> Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	123

Tabel L.16	Data Hasil Penetapan Kadar Kalsium Uji Presisi.....	126
-------------------	---	-----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	(a) Morfologi Ikan Teri Segar, (b) Morfologi Ikan Teri Setelah Dikeringkan.....	10
Gambar 2.2	Struktur Etilen Diamin Tetra Asetat.....	17
Gambar 2.3	Alat Spektrofotometri Serapan Atom	21
Gambar 2.4	Sistem Peralatan Spektrofotometer Serapan Atom.....	22
Gambar 2.5	Kurva Standar Adisi.....	27
Gambar 3.1	Kerangka Konsep.....	36
Gambar 4.1	Kerangka Operasional Proses Preparasi Sampel Ikan Teri.....	60
Gambar 4.2	Kerangka Operasional Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Permanganometri....	61
Gambar 4.3	Kerangka Operasional Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Kompleksometri.....	62
Gambar 4.4	Kerangka Operasional Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	63
Gambar 4.5	Kerangka Operasional Validasi Metode Analisis Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom.....	64
Gambar 5.1	Grafik Linieritas Metode Permanganometri.....	80
Gambar 5.2	Grafik Linieritas Metode Kompleksometri.....	81
Gambar 5.3	Grafik Linieritas Metode Spektrofotometri Serapan Atom.....	83

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Ijin Penelitian Kampus Jurusan Analis Kesehatan....	112
Lampiran 2	Surat Permohonan Ijin Penelitian Di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.....	114
Lampiran 3	Hasil Penelitian.....	115
Lampiran 4	Perhitungan Kadar Kalsium, Nilai Akurasi, Presisi, Linieritas, Limit Of Detection, Dan Limit Of Quantification.....	117
Lampiran 5	Hasil Uji Statistik.....	128
Lampiran 6	Logbook.....	130
Lampiran 7	Kartu Bimbingan Skripsi	137
Lampiran 8	Kartu Bimbingan Proposal.....	138
Lampiran 9	Bukti Revisi Proposal Skripsi.....	139
Lampiran 10	Bukti Revisi Skripsi.....	140

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kalsium merupakan salah satu nutrisi esensial yang dibutuhkan untuk berbagai fungsi tubuh. Sebagai makronutrien, kalsium mewakili sekitar 2% dari berat badan orang dewasa. Di dalam tubuh, kalsium berfungsi untuk meningkatkan kesehatan tulang, menurunkan tekanan darah, transmisi impuls saraf, mengendalikan kontraksi otot, regulasi hormon, produksi dan aktivitas enzim (regulasi pencernaan, metabolisme lemak, produksi energi), pembekuan darah serta penyembuhan luka (Beto 2015; Kapadnis, 2015).

Untuk memenuhi kebutuhan kalsium, tubuh harus memperoleh asupan makanan yang mengandung kalsium. Salah satu bahan pangan yang mengandung kalsium adalah ikan teri (*Stolephorus sp.*). Menurut Amrullah, (2012), ikan teri dapat menjadi salah satu sumber kalsium yang baik karena ikan teri dikonsumsi utuh bersama tulangnya, berbeda dengan ikan lain yang hanya dikonsumsi dagingnya saja. Penelitian yang dilakukan oleh Nurhafni, (2011) melaporkan kadar kalsium dalam ikan teri berukuran besar mencapai 2296,01 mg/100 gram.

Kandungan kalsium yang tinggi pada ikan teri (*Stolephorus sp.*) dimanfaatkan untuk meningkatkan kadar kalsium pada produk olahan pangan. Penelitian yang dilakukan oleh Juniati, (2010), melaporkan penambahan ikan teri meningkatkan kadar kalsium krupuk bawang sebesar 0,19%. Penelitian Herliani dkk., (2016), mengenai pengaruh penambahan ikan teri terhadap karakteristik dendeng, dilaporkan semakin banyak ikan teri yang ditambahkan, berbanding lurus dengan peningkatan kadar kalsium dalam dendeng.

Penetapan kadar suatu zat yang terkandung dalam bahan pangan dapat dilakukan dengan beberapa metode baik secara konvensional ataupun modern. Metode analisis konvensional merupakan metode pengukuran menggunakan pereaksi dan alat-alat sederhana, sedangkan metode analisis modern lebih mengarah pada penggunaan instrumen (Sabrina, dkk., 2012). Dalam analisis kadar kalsium terdapat beberapa metode yang dapat digunakan, diantaranya titrimetri (Basak dan Kundu, 2013; Kapadnis, 2015), AAS (*atomic absorption spectrometry*) (Sowmya dkk., 2015), ICP-OES (*inductively couple plasma optical emission spectrometry*) (Kumaravel dan Alagusundaram, 2014) dan ICP-MS (*inductively couple plasma mass spectrometry*) (Vallapragada dkk., 2011; Poirier dkk., 2016).

Menurut Petrovich dkk. (2007), dari beberapa metode tersebut, metode yang umum digunakan untuk analisis kadar kalsium adalah AAS dan titrimetri. Metode AAS dan titrimetri banyak digunakan karena memiliki kelebihan yaitu sederhana, serta memiliki akurasi dan presisi yang tinggi. Permanganometri merupakan salah satu metode titrimetri yang dapat digunakan untuk penetapan kadar kalsium dalam bahan pangan. Kalsium adalah unsur mineral yang merupakan bahan anorganik, sehingga pada metode ini dilakukan proses destruksi untuk menghilangkan bahan organik pada sampel dan kemudian ditentukan kadarnya dengan titrasi menggunakan kalium permanganat (Rahmadani, 2011).

Metode konvensional lain yang dapat digunakan untuk penetapan kadar kalsium pada bahan pangan adalah titrasi kompleksometri. Berbeda dengan titrasi permanganometri, metode ini didasarkan pada reaksi pembentukan senyawa kompleks antara ion target yaitu kalsium dengan zat pengkompleks asam etilen

diamin tetra asetat (EDTA) (Gandjar dan Rohman, 2016). Pada metode analisis modern seperti spektrofotometri serapan atom, analisis didasarkan pada penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral berupa sinar tampak dan ultraviolet (Gandjar dan Rohman, 2016). Penetapan kadar kalsium dengan metode ini dilakukan dengan mendestruksi sampel dengan menggunakan asam nitrat pekat dan hidrogen peroksida pekat. Kalsium dianalisis pada panjang gelombang 422,7 nm (Noriyanti, 2012).

Beberapa penelitian telah menguji ketiga metode diatas untuk menentukan kadar kalsium pada bahan pangan. Metode permanganometri digunakan oleh Rahmadani, (2011), untuk menetapkan kadar kalsium dalam tempe yang dibungkus plastik dan daun. Hasil penelitiannya diperoleh kadar kalsium secara berturut-turut 0,651% dan 0,931%. Penelitian Agustina, dkk., (2017), menggunakan metode kompleksometri pada penetapan kadar kalsium pada bayam hijau sebelum dan setelah perebusan, diperoleh kadar kalsium berturut-turut 0,1309% dan 0,0744%. Metode spektrofotometri serapan atom digunakan dalam penelitian yang dilakukan oleh Susanti, dkk., (2016), mengenai penetapan kadar kalsium dalam ikan kembung dan ikan gabus.

Penelitian terdahulu juga melaporkan mengenai validasi metode di atas pada penetapan kadar kalsium dalam bahan pangan. Taufik dkk., (2018) melaporkan metode titrasi kompleksometri mempunyai akurasi dan presisi yang baik dengan nilai *recovery* 99,29% dan nilai koefisien variasi yaitu 0,98%. Susanti, (2016) melaporkan akurasi metode spektrofotometri serapan atom dalam penetapan kadar kalsium memiliki nilai 91,58% dan nilai presisi 0,1%. Kedua metode tersebut dilaporkan memiliki akurasi dan presisi yang baik, sedangkan

metode titrasi permanganometri belum tersedia data validasinya dalam penetapan kadar kalsium.

Kemampuan metode analisis mendeteksi kadar suatu zat, berkaitan dengan sensitivitas, spesifitas dan selektivitas metode dalam menentukan kadar analit pada sampel (Najwa & Azrina, 2017). Selain didasarkan pada ketiga parameter tersebut, pemilihan metode analisis juga didasarkan pada beberapa pertimbangan seperti biaya, waktu analisis, dan ketersediaan alat di laboratorium. Penelitian penetapan kadar kalsium pada bahan pangan menggunakan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom telah umum dilakukan, namun belum terdapat studi yang membandingkan hasil pemeriksaan ketiga metode ini.

Berdasarkan uraian tersebut, dalam penelitian ini akan dilakukan penetapan kadar kalsium pada ikan teri dengan tiga metode yang berbeda yaitu metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom. Dalam penelitian ini juga dilakukan penentuan nilai akurasi, presisi, linieritas, *limit of detection* dan *limit of quantification* dari masing-masing metode.

1.2 Rumusan Masalah

“Apakah terdapat perbedaan kadar kalsium pada ikan teri yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom?”

1.3 Batasan Masalah

1. Kemampuan metode dalam menganalisa kadar kalsium dibandingkan berdasarkan parameter akurasi, presisi, linieritas, *limit of detection* dan *limit of quantification* dari masing-masing metode.

1.4 Tujuan

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kadar kalsium dalam ikan teri yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri, dan spektrofotometri serapan atom.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisa kadar kalsium dalam ikan teri secara permanganometri.
2. Menganalisa kadar kalsium dalam ikan teri secara kompleksometri.
3. Menganalisa kadar kalsium dalam ikan teri secara spektrofotometri serapan atom.
4. Menganalisis perbedaan kadar kalsium dalam ikan teri yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri, dan spektrofotometri serapan atom.

1.5 Manfaat

1.5.1 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kadar kalsium dalam ikan teri dan dapat digunakan sebagai acuan dalam melakukan penetapan kadar kalsium khususnya pada ikan teri ataupun bahan pangan lainnya dengan menggunakan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.

1.5.2 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dalam ilmu pengetahuan, sebagai salah satu bahan kepustakaan serta dapat dijadikan dasar penelitian lebih lanjut mengenai penetapan kadar kalsium dalam bahan pangan menggunakan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kalsium

2.1.1 Definisi

Mineral esensial diklasifikasikan dalam mineral makro dan mineral mikro. Beberapa mineral yang termasuk mineral makro diantaranya adalah kalsium, posfor, kalium, sulfur, natrium, klor, dan magnesium. Sementara yang termasuk mineral mikro adalah besi, seng, selenium, mangan, tembaga, yodium, molibdenum, kobalt, kromium, silikon, vanadium, nikel, arsen, dan flour. Mineral merupakan unsur esensial yang mempunyai fungsi normal sebagai enzim dan sangat penting dalam pengendalian komposisi cairan tubuh (Maryam, 2016).

Kalsium merupakan mineral makro yang paling banyak ditemukan dalam tubuh manusia (Maryam, 2016; Trailokya, dkk., 2017). Jumlah kalsium mencapai 2% dari berat total tubuh, 99% kalsium tersebut berada dalam jaringan keras, tulang dan gigi, sedangkan 1% berada dalam darah dan tersebar luas di dalam tubuh, baik dalam cairan ekstraseluler maupun cairan intraseluler (Nurrahmani, 2015).

Kandungan mineral dalam bahan pangan merupakan salah satu parameter awal untuk menilai kualitas suatu bahan pangan. Selain mineral, bioavailabilitas juga merupakan faktor penting dalam menilai kualitas bahan pangan. Bioavailabilitas adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan proporsi nutrisi dalam makanan yang dapat dimanfaatkan untuk fungsi-fungsi tubuh normal. Mineral yang bersifat *bioavailable* harus dalam bentuk terlarut, walaupun tidak semua mineral terlarut bersifat *bioavailable* (Santoso, dkk 2006 dalam Salamah, dkk., 2012).

2.1.2 Fungsi Kalsium

Kalsium sangat berperan dalam tubuh manusia diantaranya untuk pembentukan tulang dan gigi, selain itu berperan pada berbagai proses fisiologi dan biokimia di dalam tubuh. Kalsium berperan dalam proses pembekuan darah, eksitabilitas saraf otot, kerekatan selular, memelihara dan meningkatkan fungsi membrane sel, mengaktifkan reaksi enzim, perangsangan saraf dan otot, pengumpulan darah, perantara dalam tanggap hormonal dan sekresi hormon (Limawan, 2015; Maryam, 2016).

2.1.3 Sumber Kalsium

Sumber kalsium dapat dibagi menjadi dua, yaitu hewani dan nabati. Sumber kalsium dari pangan hewani antara lain susu dan olahannya seperti keju dan yoghurt. Golongan ikan seperti teri, sarden, salmon, kerang dan aneka ikan air tawar juga kaya akan kalsium. Sedangkan sumber kalsium dari bahan pangan nabati adalah kacang-kacangan seperti kacang panjang, kacang hijau, kacang merah, dan kacang kapri. Kalsium juga terdapat dalam buah-buahan, seperti jeruk, jambu biji, apel, advokad, salak dan sawo (Irianto, 2014; Maryam, 2016).

2.1.4 Kondisi Akibat Kekurangan dan Kelebihan Kalsium

Menurut Maryam, (2016), terdapat beberapa kondisi yang dapat diakibatkan oleh kekurangan dan kelebihan kalsium. Kekurangan kalsium dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, tulang kurang kuat, mudah bengkok, dan rapuh. Kondisi ini disebut dengan osteoporosis. Kondisi lain yang dapat disebabkan oleh kekurangan kalsium adalah osteomalasia atau riketsia. Hal ini biasanya terjadi akibat kekurangan vitamin D serta ketidakseimbangan konsumsi kalsium terhadap fosfor. Mineralisasi matriks tulang terganggu, sehingga

kandungan kalsium dalam tulang menurun. Sementara kelebihan kalsium dapat menyebabkan kondisi klinis seperti batu ginjal dan konstipasi.

2.2 Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Teri

Ikan teri asin kering merupakan produk setengah jadi dari hasil pengolahan ikan yang menggunakan kombinasi perlakuan penggaraman dan pengeringan. Meskipun demikian, ada juga ikan teri yang tidak mengalami proses penggaraman. Pengolahan ikan teri yang di keringkan dengan memiliki rasa asin dapat di lakukan dengan cara berikut ini: ikan yang berukuran kecil (sering di sebut ikan teri) dalam proses pengolahan beragam tidak memerlukan penyiangan atau pembuangan bagian tubuh lainnya. Ikan teri cukup dibersihkan dari kotoran dan dicuci bersih, kemudian dimasukkan dalam larutan garam secukupnya dalam waktu tertentu, dan dilanjutkan dengan pengeringan di bawah sinar matahari (Wenda, 2017). Menurut Hutomo, dkk., (1987) dalam Aryati dan Dharmayanti, (2014) klasifikasi ikan teri adalah sebagai berikut

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrae
Kelas	: Pisces
Sub kelas	: Teleostei
Ordo	: Malacopterygii
Famillia	: Clopeidae
Sub famili	: Engraulidae
Genus	: Stolephorus

Species : *Stolephorus* sp.

Ikan teri berukuran kecil dengan ukuran bervariasi yaitu antara 6-9 cm seperti pada Gambar 2.1. Gambaran morfologi ikan teri yaitu sirip caudal bercagak dan tidak bergabung dengan sirip anal, duri abdominal hanya terdapat sirip pektoral dan ventral, tidak berwarna atau agak kemerah-merahan. Bentuk tubuhnya bulat memanjang (*fusiform*) atau agak termampat kesamping (*compressed*), pada sisi samping tubuhnya terdapat garis putih keperakan memanjang dari kepala sampai ekor. Sisiknya kecil dan tipis sangat mudah lepas, tulang rahang atas memanjang mencapai celah insang (Saain, 1984 dalam Aryati dan Dharmayanti, 2014).



Gambar 2.1 (a) Morfologi Ikan Teri Segar, (b) Morfologi Ikan Teri Setelah Dikeringkan

2.2.2 Kandungan Ikan Teri

Ikan teri mengandung protein, mineral, vitamin, dan zat gizi lainnya yang sangat bermanfaat untuk kesehatan dan kecerdasan. Protein teri tersusun atas beberapa macam asam amino esensial. Komposisi kimia ikan teri di pengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Ikan teri sangat tinggi kandungan proteinnya, yaitu 68,7 g/100 g teri kering tawar dan 42 g/100 g teri kering asin. Protein ikan teri mengandung sejumlah asam amino esensial, yaitu asam amino yang tidak

dapat dibentuk didalam tubuh, tetapi harus berasal dari makanan. Asam amino esensial yang paling menonjol pada ikan teri adalah isoleusin, leusin, lisin dan valin (Astawan, 2008).

Selain mengandung asam amino esensial, teri juga kaya akan asam amino non esensial. Asam amino non esensial yang menonjol pada ikan teri adalah asam glutamat dan asam aspartat, masing-masing kadarnya mencapai 1.439 dan 966 mg/100 g teri segar. Zat gizi yang tinggi dari ikan teri adalah mineral, kalsium, fosfor dan zat besi. Kandungan kalsium pada ikan teri segar, kering tawar dan kering asin per 100 gramnya, masing-masing adalah 500, 2.381, dan 2.000 mg, Sedangkan kadar fosfornya, masing-masing adalah 500, 1.500, dan 300 mg/100g (Astawan, 2008). Kandungan kalsium ikan teri yaitu $1989 \pm 14,5360$ mg/100 gram untuk ikan teri kecil, pada ikan teri sedang $2207,23 \pm 12,1305$ mg/100 gram dan pada ikan teri besar adalah $2296,01 \pm 11,4356$ mg/100 gram (Nurhafni, 2011).

2.2.3 Manfaat Ikan Teri

Ikan teri dikonsumsi seluruh bagiannya, dari ujung kepala hingga ekornya. Hal ini sangat membantu untuk pertumbuhan dan kekuatan tulang, karena ikan teri sangat kaya dengan kandungan kalsium dan fluor. Bahkan dengan berat yang sama, kandungan kalsium teri lebih tinggi dibandingkan susu. Di dalam tubuh, kalsium berperan penting dalam menjaga kekuatan tulang, kerapatan tulang (massa), sehingga mengurangi risiko osteoporosis. Meski demikian penyerapan kalsium pada teri perlu mendapat dukungan dari vitamin D agar lebih mudah diserap tubuh. Makanan yang mengandung vitamin D antara lain aneka makanan laut, sereal, keju, telur dan juga susu (Wenda, 2017).

Menurut Wenda, (2017), terdapat beberapa manfaat ikan teri dalam kesehatan, diantaranya adalah:

a. Kesehatan Tulang

Vitamin dan mineral yang ada dalam ikan teri memberikan banyak manfaat kesehatan, termasuk membantu meningkatkan kesehatan tulang, mencegah risiko osteoporosis dan masalah tulang lainnya. Kalsium dan vitamin A yang ada dalam ikan teri dapat mempengaruhi pertumbuhan tulang, serta mencegah degradasi tulang.

b. Kesehatan Mata

Vitamin A yang terkandung dalam ikan teri juga dapat membantu menjaga kesehatan mata. Dengan mendapatkan vitamin A yang cukup, tubuh dapat mempertahankan diri dari radikal bebas yang membantu mencegah degenerasi makula dan katarak.

c. Kesehatan kulit

Adanya omega-3 dan selenium dapat membantu mempertahankan kehalusan kulit, mencegah jerawat, dan mengurangi kemungkinan keriput yang berkaitan dengan penuaan dini. Vitamin E pada ikan teri juga dapat membantu melindungi kulit dari sinar matahari, sehingga membantu mengurangi risiko kanker kulit.

d. Kesehatan jantung

Ikan teri mengandung lemak tak jenuh ganda yang dapat mengurangi tingkat kolesterol jahat (*Low Density Lipoprotein*) yang dapat menyebabkan arterosklerosis, serangan jantung, dan stroke.

e. Perbaiki sel dan jaringan

Kandungan protein dalam ikan teri dapat membantu fungsi dan efisiensi metabolisme sel, perbaikan jaringan ikat dan pertumbuhan sel-sel baru.

f. Membantu menurunkan berat badan

Ikan teri kaya akan protein dan rendah kalori yang membuatnya ideal bagi mereka yang mencoba untuk menurunkan berat badan. Peningkatan kadar protein sering dapat menghasilkan rasa kenyang, yang mencegah makan berlebihan, dan memberikan manfaat gizi cukup tanpa meningkatkan jumlah kalori.

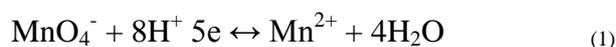
g. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh

Banyaknya kandungan vitamin dan mineral dalam ikan teri dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh sehingga orang yang mengonsumsi ikan teri cenderung tidak mudah sakit, aliran darah lancar dan sel-sel dapat berfungsi dengan baik.

2.3 Metode Permanganometri

2.3.1 Definisi dan Prinsip

Permanganometri merupakan salah satu metode titrasi yang menggunakan prinsip reaksi reduksi dan oksidasi. Dalam suasana asam reaksi paro kalium permanganat adalah sebagai berikut:



Kalium permanganat merupakan oksidator yang sangat kuat. Dari persamaan diatas dapat diketahui bahwa berat ekuivalen (BE) dari KMnO_4 adalah seperlima dari berat molekulnya ($\text{BE} = 1/5 \text{ BM}$), karena tiap mol kalium

permanganat setara dengan 5 elektron sehingga valensinya 5 dan $BE = BM/5$ (Gandjar dan Rohman, 2012).

Asam sulfat merupakan asam yang paling cocok digunakan sebagai pelarut karena jika digunakan asam klorida maka kemungkinan akan terjadi reaksi seperti di bawah ini:



Dengan demikian, sebagian permanganatnya digunakan untuk pembentukan klorin. Reaksi ini terutama terjadi dengan garam-garam besi. Adanya mangan dioksida dapat mempercepat peruraian permanganat karena mangan dioksida tersebut memperbanyak pembentukan mangan dioksida sehingga penguraian bertambah cepat. Ion-ion mangan juga dapat bereaksi dengan permanganat membentuk mangan dioksida menurut reaksi:



Reaksi ini berjalan lambat dalam suasana asam, akan tetapi berjalan dengan sangat cepat dalam suasana netral. Karena akuades mengandung zat-zat organik yang dapat mereduksi, maka sering terjadi penguraian sendiri dalam penyimpanan larutan kalium permanganat menurut reaksi berikut:



Reaksi ini dikatalis oleh MnO_2 padat. Kalium permanganat juga digunakan sebagai oksidator dalam larutan alkalis kuat, maka terdapat dua kemungkinan bagian reaksi yaitu pertama reaksi yang berjalan relatif cepat: $\text{MnO}_4^- + e \leftrightarrow \text{MnO}_4^{2-}$ dan reaksi kedua yang berlangsung lambat: $\text{MnO}_4^{2-} + 2\text{H}_2\text{O} + 2e \leftrightarrow \text{MnO}_2 + 4\text{OH}^-$

Dengan mengatur suasana pada reaksi sebaik-baiknya (misalnya dengan menambah ion barium yang dapat membentuk endapan barium manganat) maka reaksi pertama dapat berjalan dengan baik sekali. Dalam suasana alkalis, permanganat secara kuantitatif direduksi menjadi mangan dioksida menurut reaksi berikut:



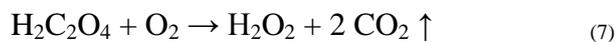
Dari uraian diatas maka untuk membuat larutan baku kalium permanganat harus dilakukan pengendalian terhadap faktor-faktor yang dapat menyebabkan penurunan yang besar dari kekuatan larutan baku tersebut, antara lain dengan pemanasan dan penyaringan untuk menghilangkan zat-zat yang mudah dioksidasi (Gandjar dan Rohman, 2012).

Reaksi oksidasi terhadap $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ berjalan lambat pada temperatur ruang. Untuk mempercepat reaksi diperlukan proses pemanasan. Untuk mempersiapkan larutan standar KMnO_4 harus dihindarkan adanya MnO_2 . KMnO_4 dapat distandarkan terhadap $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$. Natrium oksalat merupakan bahan baku primer yang baik, sangat murni, stabil selama pengeringan dan tidak higroskopis. Natrium oksalat di titrasi dalam larutan asam (Rahmadani, 2011).



Reaksi sebenarnya sangat kompleks dan berjalan lambat walaupun pada suhu tinggi. Tetapi setelah mulai, selanjutnya berlangsung lebih cepat berkat katalis oleh Mn^{2+} yang terbentuk (autokatalisa). Diperkirakan autokatalisa ini terjadi karena Mn^{2+} dengan cepat dioksidasi oleh MnO_4^- menjadi Mn bervalensi 3 atau 4. Inilah yang dengan cepat sekali mengoksidasi oksalat kembali menjadi

Mn^{2+} . Sebagian kecil oksalat teroksidasi oleh udara menjadi peroksida yang kemudian dapat terurai sendiri dalam larutan yang panas.



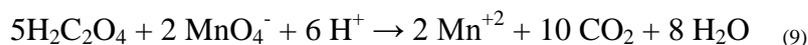
Umumnya titrasi oksalat oleh $KMnO_4$ berlangsung pada larutan yang sudah dipanaskan dengan api sekitar $60^\circ C$, dengan penambahan $KMnO_4$ tidak terlalu cepat dan tidak juga terlalu lambat. Penambahan yang terlalu cepat cenderung menyebabkan reaksi antara MnO_4^- dengan Mn^{+2} , sedangkan bila terlalu lambat mungkin terjadi kehilangan oksalat karena membentuk peroksida yang kemudian terurai menjadi air (Rahmadani, 2011).

2.3.2 Penentuan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri

Kalsium yang merupakan unsur mineral dan bahan anorganik, didestruksi dengan bantuan oksidator asam nitrat pekat, asam klorida pekat dan H_2O_2 30 % untuk menghilangkan bahan organik dalam sampel, kemudian kalsium diendapkan terlebih dahulu sebagai kalsium oksalat lalu endapannya dilarutkan dalam H_2SO_4 encer dan dititrasi dengan $KMnO_4$ 0,1 N yang bertindak sebagai oksidator. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya warna larutan merah jambu pertama yang tidak hilang selama 15 detik (Yenrina, 2015).

Kalium permanganat bukan pereaksi baku primer, sangat sukar didapatkan dalam keadaan murni dan bebas dari mangan dioksida. Oleh karena itu harus distandarisasi terlebih dahulu. Standarisasi dilakukan supaya dapat diketahui konsentrasi dari kalium permanganat. Larutan baku primer yang digunakan adalah $H_2C_2O_4$ (Rahmadani, 2011).

Pada standarisasi kalium permanganat titik akhir titrasi menunjukkan warna merah muda. Reaksi yang terjadi adalah :



Pada penentuan kadar kalsium digunakan kalium permanganat sebagai titran karena dapat diperoleh dengan mudah, tidak mahal dan tidak membutuhkan indikator. Satu tetes 0,1 N permanganat memberikan warna merah muda. Warna ini digunakan untuk mengidentifikasi kelebihan KMnO_4 tersebut. Reaksinya adalah :



Titration yang menggunakan kalium permanganat sebagai titran harus dalam suasana asam, karena jika dalam suasana asam lemah atau dalam larutan netral dan basa akan terbentuk endapan coklat MnO_2 yang mengganggu. Pada penambahan titran, warna merah hilang makin cepat karena ion Mn^{2+} yang berfungsi sebagai katalis untuk mempercepat reaksi. Selanjutnya titran ditambahkan lebih cepat sampai titik akhir titrasi tercapai, yaitu sampai pada tetesan warna merah jambu pucat yang tidak hilang selama 15 detik. Warna pada titik akhir ini tidak tetap bertahan, setelah beberapa lama lenyap kembali akibat reaksi antara kelebihan MnO_4^- dengan ion Mn^{2+} hasil titrasi. Reaksinya adalah :

$$2\text{H}_2\text{O} + 2\text{MnO}_4^- + 3\text{Mn}^{2+} \rightarrow 5\text{MnO}_2 + 4\text{H}^+ \quad (\text{Rahmadani}, 2011).$$

2.4 Metode Kompleksometri

2.4.1 Definisi dan Prinsip

Titration kompleksometri digunakan untuk menentukan kandungan garam-garam logam. Etilen diamin tetra asetat (EDTA) merupakan zat pengkompleks

yang sering digunakan. Gambar 2.2 menunjukkan struktur EDTA (Gandjar dan Rhoman, 2016)..



Gambar 2.2 Struktur Etilen Diamin Tetra Asetat (Gandjar dan Rohman, 2012)

Etilen diamin tetra asetat akan membentuk kompleks 1:1 yang stabil dengan semua logam kecuali logam alkali tanah seperti kalsium dan magnesium membentuk kompleks yang tidak stabil pada pH rendah, karenanya titrasi logam-logam ini dengan EDTA dilakukan pada larutan buffer ammonia pH 10 (Gandjar dan Rhoman, 2016). Nilai pH larutan dalam titrasi kompleksometri harus dikontrol, karena dapat mempengaruhi selektivitas pembentukan kompleks antara EDTA dengan logam target (Nielsen, 2010). Berikut merupakan persamaan reaksi pada titrasi kompleksometri.



Untuk mendeteksi titik akhir titrasi digunakan indikator zat warna. Indikator zat warna ditambahkan pada larutan logam pada saat awal sebelum dilakukan titrasi dan akan membentuk kompleks berwarna dengan sejumlah kecil logam. Pada titik akhir titrasi (terdapat sedikit kelebihan EDTA) maka kompleks indikator logam akan pecah dan menghasilkan warna yang berbeda. Indikator yang dapat digunakan untuk titrasi kompleksometri ini antara lain: Eriokrom hitam (*Eriochrom Black T*, *Mordant Black II*, *Solochrome Black*); mureksid; jingga pirokatekol; jingga xilenol; asam kalkon karbonat; kalmagit; dan biru hidroksi naftol (Gandjar dan Rohman, 2016).

2.4.2 Jenis-jenis Titrasi Kompleksometri

Terdapat berbagai jenis titrasi kompleksometri yaitu: titrasi langsung, titrasi kembali, titrasi substitusi, titrasi tidak langsung, dan titrasi alkalimetri (Gandjar dan Rohman, 2012).

1. Titrasi Langsung

Titrasi langsung merupakan metode paling sederhana dan sering digunakan. Larutan ion yang akan ditetapkan ditambah dengan buffer, misalnya buffer pH 10 lalu ditambahkan indikator logam yang sesuai dan dititrasi langsung dengan larutan baku dinatrium etilen diamin tetra asetat. Untuk mencegah pengendapan logam hidroksida atau garam basa dengan buffer, dilakukan dengan penambahan pembentuk kompleks pembantu misalnya tartrat, sitrat, atau trietanol amin. Pada titik ekuivalen, kadar ion logam yang ditetapkan berkurang dengan yang ditunjukkan oleh perubahan warna indikator logam yang dipengaruhi oleh $pM = -\log (M^{n+})$. Titik akhir juga dapat ditetapkan secara amperometri, konduktometri, spektrofotometri, atau potensiometri.

2. Titrasi Kembali

Cara ini penting untuk logam yang mengendap dengan hidroksida pada pH yang dikehendaki untuk titrasi, untuk senyawa tidak larut misalnya sulfat, kalsium oksalat, untuk senyawa yang membentuk kompleks yang sangat lambat dan ion logam yang membentuk kompleks lebih stabil dengan natrium EDTA daripada indikator. Pada keadaan demikian, dapat ditambahkan larutan baku dinatrium EDTA berlebih kemudian larutan ditambahkan buffer pada pH yang diinginkan, dan kelebihan dinatrium EDTA dititrasi kembali dengan larutan baku ion logam. Titik akhir ditunjukkan dengan bantuan indikator logam.

3. Titrasi Substitusi

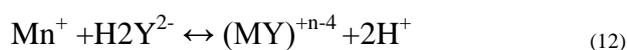
Cara ini dilakukan bila ion logam tersebut tidak memberikan titik akhir yang jelas apabila dititrasi secara langsung atau dengan titrasi kembali, atau juga jika ion logam tersebut membentuk kompleks dengan dinatrium EDTA lebih stabil daripada logam lain seperti magnesium dan kalsium. Kalsium, timbal dan raksa dapat ditetapkan menggunakan cara ini dengan indikator hitam eriokrom.

4. Titrasi Tidak Langsung

Cara titrasi tidak langsung (*Indirect titration*) dapat digunakan untuk menentukan kadar ion-ion seperti anion yang tidak bereaksi dengan pengkelat. Hal ini dapat dilakukan pada barbiturat yang diketahui tidak bereaksi dengan EDTA, akan tetapi secara kuantitatif dapat diendapkan dengan ion merkuri dalam keadaan basa sebagai ion kompleks 1:1. Setelah pengendapan dengan kelebihan Hg(II), kompleks dipindahkan dengan cara penyaringan dan dilarutkan kembali dalam larutan baku EDTA berlebih. Larutan baku Zn(II) dapat digunakan untuk menitrasi kelebihan EDTA ini menggunakan indikator yang sesuai untuk mendeteksi titik akhir. Pendekatan lain adalah pengendapan anion dengan kelebihan logam yang sesuai dan kelebihan ion logam dalam filtrat ini dititrasi dengan larutan baku EDTA.

5. Titrasi Alkalimetri

Pada metode ini, proton dari dinatrium EDTA, Na₂H₂Y dibebaskan oleh logam berat dan dititrasi dengan larutan baku alkali sesuai dengan persamaan reaksi berikut:

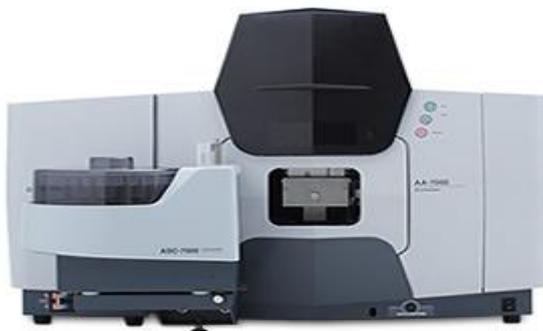


Larutan logam yang ditetapkan dengan metode ini sebelum dititrasi harus dalam suasana netral terhadap indikator yang digunakan. Penetapan titik akhir titrasi menggunakan indikator asam-basa atau secara potensiometri.

2.5 Metode Spektrofotometri Serapan Atom

2.5.1 Definisi dan Fungsi

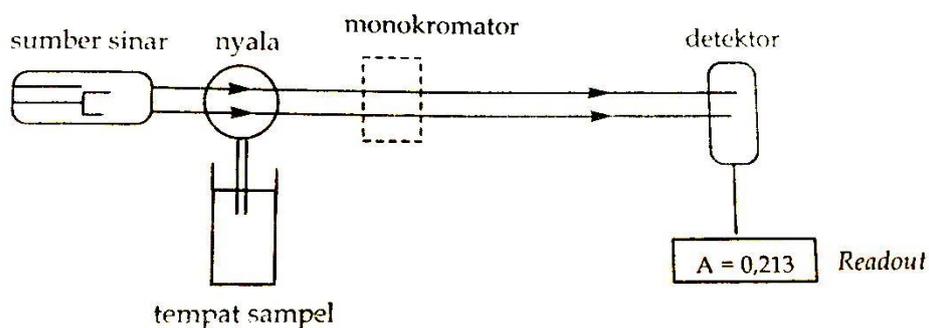
Spektroskopi serapan atom digunakan untuk analisis kuantitatif unsur-unsur logam dalam jumlah sekelumit (*trace*) dan sangat kelumit (*ultratrace*). Cara analisis ini memberikan kadar total unsur logam dalam suatu sampel dan tidak bergantung pada bentuk molekul dari logam dalam sampel tersebut. Cara ini cocok digunakan untuk analisis kelumit logam karena mempunyai kepekaan yang tinggi (batas deteksi kurang dari 1 ppm), pelaksanaannya sederhana dan interferensinya sedikit (Gandjar dan Rohman, 2011). Gambar 2.3 berikut ini, menunjukkan alat spektrofotometri serapan atom.



Gambar 2.3 Alat Spektrofotometri Serapan Atom (*Shimadzu*)

2.5.2 Instrumentasi Spektrofotometer Serapan Atom

Gambar 2.4 menunjukkan sistem peralatan spektrofotometer serapan atom yang terdiri dari sumber sinar, nyala, monokromator, detector, tempat sampel dan *readout* (Gandjar dan Rohman, 2016).



Gambar 2.4 Sistem Peralatan Spektrofotometer Serapan Atom (Gandjar dan Rohman, 2016)

1. Sumber sinar

Sumber sinar yang umum digunakan adalah lampu katoda berongga (*hollow cathode lamp*). Lampu ini terdiri atas tabung kaca tertutup yang mengandung suatu katoda dan anoda. Katoda sendiri berbentuk silinder berongga yang terbuat dari logam atau dilapis dengan logam tertentu. Tabung logam ini diisi dengan gas mulia (neon atau argon) dengan tekanan rendah (10-15 torr). Neon biasanya lebih umum digunakan karena memberikan intensitas pancaran lampu yang lebih rendah.

Bila antara anoda dan katoda diberi suatu selisih tegangan yang tinggi (600 volt), maka katoda akan memancarkan berkas-berkas elektron yang bergerak menuju anoda yang mana kecepatannya dan energinya sangat tinggi. Elektron-elektron dengan energi tinggi ini dalam perjalanannya menuju anoda akan bertabrakan dengan gas-gas mulia yang diisikan sebelumnya. Akibat dari tabrakan ini membuat unsur-unsur gas mulia akan kehilangan elektron dan menjadi ion bermuatan positif. Ion-ion gas mulia yang bermuatan positif ini selanjutnya akan bergerak menuju katoda dengan kecepatan dan energi yang tinggi.

2. Tempat sampel

Dalam analisis dengan spektrofotometer serapan atom, sampel yang akan dianalisis harus diuraikan menjadi atom-atom netral yang masih dalam keadaan dasar. Terdapat berbagai macam alat yang dapat digunakan untuk mengubah suatu sampel menjadi uap atom-atom yaitu: dengan nyala (*flame*) dan tanpa nyala (*flameless*). Nyala (*flame*) digunakan untuk mengubah sampel yang berupa padatan atau cairan menjadi bentuk uap atomnya, berfungsi untuk atomisasi, dan untuk mengeksitasi atom dari tingkat dasar ke tingkat yang lebih tinggi.

Teknik atomisasi dengan nyala dinilai kurang peka karena atom gagal mencapai nyala, tetesan sampel yang masuk ke dalam nyala terlalu besar, dan proses atomisasi kurang sempurna. Oleh karena itu, terdapat teknik lain yaitu atomisasi tanpa nyala. Sistem pemanasan dengan nyala ini dapat dibagi menjadi tiga tahap yaitu: pengeringan (*drying*) yang membutuhkan suhu yang relatif rendah, pengabuan (*ashing*) dengan suhu yang lebih tinggi untuk menghilangkan matriks kimia dengan mekanisme volatilasi atau pirolisis, dan pengatoman (*atomizing*).

3. Monokromator

Pada spektrofotometer serapan atom, monokromator dimaksudkan untuk memisahkan dan memilih panjang gelombang yang digunakan dalam analisis. Di samping sistem optik, dalam monokromator juga terdapat suatu alat yang digunakan untuk memisahkan radiasi resonansi dan kontinyu yang disebut dengan istilah *chopper*.

4. Detektor

Detektor digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang melauai tempat atomisasi. Biasanya digunakan tabung gandaan foton (*photomultiplier tube*). Terdapat dua cara yang dapat digunakan dalam sistem deteksi yaitu: (a) yang memberikan respon terhadap radiasi resonansi dan radiasi kontinyu; dan (b) yang hanya memberikan respon terhadap radiasi resonansi.

Pada cara pertama, *output* yang dihasilkan dari radiasi resonan dan radiasi kontinyu disalurkan pada sistem galvanometer dan setiap perubahan yang disebabkan oleh radiasi resonan akan menyebabkan perubahan *output*. Pada cara kedua, *output* berasal dari radiasi resonan dan radiasi kontinyu yang dipisahkan. Dalam hal ini, sistem penguat harus cukup selektif untuk dapat membedakan radiasi. Cara terbaik adalah dengan menggunakan detektor yang hanya peka terhadap radiasi resonan yang termodulasi.

5. Readout

Readout merupakan suatu alat penunjuk atau dapat juga diartikan sebagai sistem pencatatan hasil. Pencatatan hasil dilakukan dengan suatu alat yang telah terkalibrasi untuk pembacaan suatu transmisi atau absorpsi. Hasil pembacaan dapat berupa angka atau berupa kurva dari suatu *recorder* yang menggambarkan absorbansi atau intensitas emisi.

2.5.3 Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometri Serapan Atom

Untuk keperluan analisis kuantitatif dengan SSA, maka sampel harus dalam bentuk larutan. Untuk menyiapkan larutan, sampel harus diperlakukan sedemikian rupa yang pelaksanaannya tergantung dari macam dan jenis sampel. Bagian terpenting yaitu larutan yang akan dianalisis harus sangat encer. Terdapat

beberapa cara untuk melarutkan sampel, yaitu: (1) langsung dilarutkan dengan pelarut yang sesuai; (2) sampel dilarutkan dalam suatu asam; (3) sampel dilarutkan dalam suatu basa atau dilebur dahulu dengan basa baru kemudian hasil leburan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai (Gandjar dan Rohman, 2016).

Metode pelarutan apapun yang akan dipilih untuk dilakukan analisis dengan SSA, yang terpenting adalah bahwa larutan yang dihasilkan harus jernih, stabil, dan tidak mengganggu zat-zat yang dianalisis. Terdapat beberapa metode kuantifikasi hasil analisis dengan metode SSA yaitu: (1) dengan menggunakan kurva kalibrasi; (2) dengan perbandingan langsung; (3) dengan menggunakan dua baku; dan (4) dengan menggunakan metode standar adisi (metode penambahan baku) (Gandjar dan Rohman, 2012).

1. Kuantifikasi dengan kurva baku (kurva kalibrasi)

Spektrofotometri serapan atom merupakan metode analisis yang absolut. Perbandingan dengan baku merupakan metode yang umum dalam melakukan analisis kuantitatif. Kurva kalibrasi dalam SSA dibuat dengan memasukkan sejumlah tertentu konsentrasi larutan dalam sistem dilanjutkan dengan pengukuran. Dalam prakteknya disarankan untuk membuat paling tidak 4 baku dan 1 blanko untuk membuat kurva kalibrasi linier yang menyatakan hubungan antara absorbansi (A) dengan konsentrasi analit untuk melakukan analisis.

Disarankan absorbansi sampel tidak melebihi dari absorbansi baku tertinggi dan tidak kurang dari absorbansi baku terendah. Dengan kata lain absorbansi sampel harus terletak di luar kisaran absorbansi kurva kalibrasi maka diperlukan pengenceran atau pemekatan. Ekstrapolasi atau pembacaan absorbansi

di luar kisaran absorbansi baku tidak direkomendasikan karena kurangnya linieritas.

2. Kuantifikasi dengan cara perbandingan langsung

Cara ini hanya boleh dilakukan jika telah diketahui bahwa kurva kalibrasi baku yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi linier dan melewati titik nol. Kuantifikasi perbandingan langsung dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan baku (A_b) dengan konsentrasi tertentu (C_b) pada satu konsentrasi saja; lalu dibaca juga absorbansi larutan sampel (A_s). Kadar sampel (C_s) dihitung dengan rumus:

$$C_s = \frac{A_s}{A_b} \times C_b$$

Keterangan: A_b adalah absorbansi baku; A_s adalah absorbansi sampel; C_b adalah konsentrasi baku; C_s adalah konsentrasi sampel.

3. Kuantifikasi dengan cara dua baku

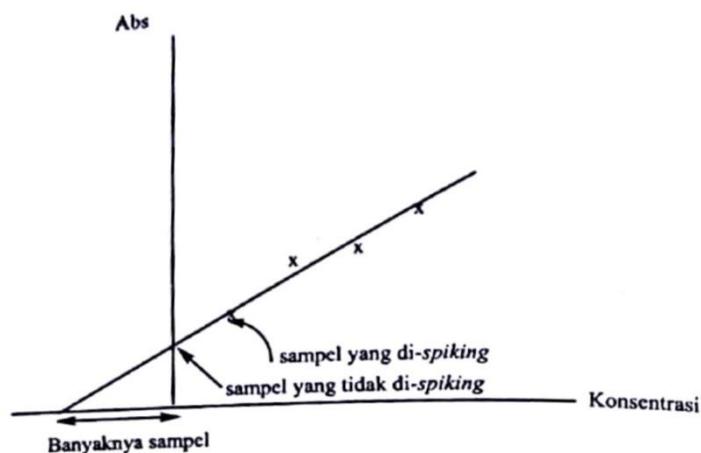
Cara ini merupakan adaptasi dari cara (1) dan cara (2). Dibuat masing-masing 2 buah larutan baku yang konsentrasinya sedikit lebih rendah dan lebih tinggi dari konsentrasi sampel (konsentrasi baku yang dibuat kira-kira konsentrasi sampel -5% dan konsentrasi +5%). Keuntungan cara ini adalah komposisi/konsentrasi larutan baku mendekati komposisi/konsentrasi sampel sehingga akan diperoleh presisi dan akurasi yang baik.

4. Cara standar adisi (cara penambahan baku)

Kebanyakan analisis dilakukan pada sampel yang tidak identik dengan standar dalam larutan air, karenanya pada kasus ini diperlukan pencampuran matriks dengan matriks standar. Jika matriks tidak diketahui atau bervariasi dari satu ke yang lain, maka dapat digunakan metode standar adisi. Metode ini

digunakan untuk menghindari gangguan-gangguan, baik gangguan kimia atau gangguan spektra.

Prosedur metode standar adisi ini melibatkan pengukuran absorbansi dengan SSA (S), selanjutnya sejumlah kecil standar (S_v) ditambahkan pada sampel dan diukur absorbansinya ($S + S_v$). Langkah penambahan standar ini diulangi dengan menggunakan konsentrasi standar S_v yang berbeda (S_{v1} , S_{v2} , S_{v3} , dsb) dan dilanjutkan dengan pembacaan absorbansinya. Proses penambahan baku pada sampel ini disebut dengan *spiking*. Gambar 2.5 menggambarkan grafik standar adisi yang menunjukkan banyaknya konsentrasi analit dalam sampel dapat diperoleh dengan ekstrapolasi balik.



Gambar 2.5 Kurva Standar Adisi (Gandjar dan Rohman, 2016)

2.5.4 Gangguan-Gangguan pada Spektrofotometri Serapan Atom

Menurut Gandjar dan Rohman, (2012) yang dimaksud dengan gangguan-gangguan (*interference*) pada SSA adalah peristiwa yang menyebabkan pembacaan absorbansi unsur yang dianalisis menjadi lebih kecil atau lebih besar dari nilai yang sesuai dengan konsentrasinya dalam sampel. Gangguan-gangguan yang dapat terjadi dalam SSA adalah sebagai berikut:

1. Gangguan yang berasal dari matriks sampel yang mana dapat mempengaruhi banyaknya sampel mencapai nyala.

Sifat-sifat tertentu matriks sampel dapat mengganggu analisis yakni matrik tersebut dapat berpengaruh terhadap laju aliran bahan bakar/ gas pengoksidasi. Sifat-sifat tersebut adalah: viskositas, tegangan permukaan, berat jenis, dan tekanan uap. Gangguan matriks yang lain adalah pengendapan unsur yang dianalisis sehingga jumlah atom yang mencapai nyala menjadi lebih sedikit dari konsentrasi yang seharusnya terdapat dalam sampel.

2. Gangguan kimia yang dapat mempengaruhi jumlah/ banyaknya atom yang terjadi di dalam nyala.

Terbentuknya atom-atom netral yang masih dalam keadaan azas di dalam nyala sering terganggu oleh dua peristiwa kimia, yaitu: (a) disosiasi senyawa-senyawa yang tidak sempurna, dan (b) ionisasi atom-atom di dalam nyala. Terjadinya disosiasi yang tidak sempurna disebabkan oleh terbentuknya senyawa-senyawa yang bersifat refraktorik (sukar diuraikan dalam nyala api). Contoh senyawa-senyawa refraktorik adalah: oksida-oksida dan garam-garam fosfat, silikat, aluminat dari logam alkali tanah, dan juga garam flourotantalat. Dengan terbentuknya senyawa yang bersifat refraktorik ini, maka akan mengurangi jumlah atom netral yang ada di dalam nyala.

Ionisasi atom-atom dalam nyala dapat terjadi jika suhu yang digunakan untuk atomisasi terlalu tinggi. Prinsip analisis dengan SSA adalah mengukur absorbansi atom-atom netral yang berada dalam keadaan azas. Jika terbentuk ion maka akan mengganggu pengukuran absorbansi atom netral karena spektrum

absorbansi atom-atom yang mengalami ionisasi tidak sama dengan spektrum atom dalam keadaan netral.

3. Gangguan oleh absorbansi yang disebabkan bukan oleh absorbansi atom yang dianalisis; yakni absorbansi oleh molekul-molekul yang tidak terdisosiasi di dalam nyala.

Adanya gangguan-gangguan di atas dapat diatasi dengan menggunakan cara-cara-cara berikut:

- a. Penggunaan nyala/suhu atomisasi yang lebih tinggi

Dengan suhu yang lebih tinggi, maka senyawa-senyawa akan bereaksi secara sempurna. Untuk menguraikan senyawa yang bersifat refraktorik, tidak hanya suhu yang harus ditinggikan, akan tetapi juga komposisi nyala; yakni perbandingan antara gas pembakar dan gas pengoksidasi. Jika jumlah gas pembakar berlebih, maka nyala akan bersifat mereduksi dan hal ini penting untuk membantu proses penguraian.

- b. Penambahan senyawa penyangga

Senyawa penyangga akan mengikat gugus pengganggu (silikat, fosfat, aluminat, sulfat dan sebagainya). Contoh unsur penyangga adalah Sr dan La yang ditambahkan pada analisa Ca secara SSA. Dengan penambahan senyawa-senyawa ini maka ion fosfat akan terikat dan tidak akan membentuk Ca-fosfat yang bersifat refraktoris. Sementara itu, untuk menghindari pengaruh gangguan karena ionisasi dapat ditambahkan unsur lain yang mempunyai potensial ionisasi yang lebih rendah dibanding potensial ionisasi unsur yang dianalisis.

c. Pengekstrasian unsur yang akan dianalisis

Untuk mengekstraksi senyawa logam ke dalam pelarut organik, maka logam tersebut harus dibuat dalam bentuk kompleks baru. Kompleks ini selanjutnya dapat diekstraksi dengan pelarut organik.

d. Pengekstraksian ion atau gugus pengganggu

Gangguan kimia yang ditimbulkan oleh ion atau gugus pengganggu dapat dihindari dengan jalan mengekstraksi ion atau gugus pengganggu tersebut.

4. Gangguan oleh penyerapan non-atomik (*non atomic absorption*)

Gangguan jenis ini berarti terjadinya penyerapan cahaya dari sumber sinar yang bukan berasal dari atom-atom yang akan dianalisis. Penyerapan non-atomik dapat disebabkan adanya penyerapan cahaya oleh partikel-partikel padat yang berada di dalam nyala. Cara mengatasi gangguan penyerapan non atomik ini adalah dengan bekerja pada panjang gelombang yang lebih besar atau pada suhu yang lebih tinggi. Jika kedua cara ini masih belum bisa membantu menghilangkan gangguan penyerapan non atomik ini, maka satu-satunya cara adalah dengan mengukur besarnya penyerapan non atomik menggunakan sumber sinar yang memberikan spektrum kontinyu. Alat yang digunakan dilengkapi dengan lampu katoda nikel yang diisi dengan gas hidrogen.

2.6 Validasi Metode Analisis

Validasi metode adalah proses yang digunakan untuk mengonfirmasi bahwa prosedur analitik yang digunakan untuk pengujian memenuhi persyaratan. Hasil dari validasi metode dapat digunakan untuk menilai kualitas, keandalan, dan konsistensi analitis (Patel, dkk., 2011). Validasi metode menurut *United States*

Pharmacopeia (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Prinsip dan praktik validasi prosedur analitis dimuat oleh *International Conference on Harmonisation* (ICH) dan diterbitkan sebagai pedoman Q2 (R1) (Eldin, 2011).

Menurut Gandjar dan Rohman, (2016), suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi permasalahan analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi, ketika:

- a. Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu.
- b. Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi.
- c. Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu.
- d. Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, di kerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda.
- e. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dengan metode baku.

Menurut USP (*United States Pharmacopeia*), terdapat 8 langkah dalam validasi metode analisis, meliputi: presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantifikasi, spesifisitas, linieritas dan rentang, kekasaran (*ruggedness*) dan ketahanan (*robustness*). Sementara itu menurut ICH (*International Conference on Harmonization*) membagi karakteristik validasi metode yang sedikit berbeda dengan USP yaitu: presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantifikasi, spesifisitas,

linieritas, kisaran (*range*), ketahanan (*robustness*) dan kesesuaian sistem (Gandjar dan Rohman, 2016).

1. Ketepatan (akurasi)

Akurasi (*accuracy*) menunjukkan kedekatan nilai hasil analisis terhadap nilai sebenarnya (Kazusaki dkk., 2012). Akurasi merupakan ketelitian metode analisis yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel. Nilai % *recovery* yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu 90-108%. Untuk memperoleh nilai akurasi dari suatu metode ICH (*International Conference on Harmonization*) merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi) dan data dilaporkan sebagai presentase perolehan kembali (Gandjar dan Rohman, 2016).

2. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan atau konsistensi kedekatan suatu hasil pemeriksaan apabila dilakukan secara berulang pada sampel yang homogen. Nilai presisi dari metode analisis biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku relative atau koefisien variasi dari jumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik (Eldin, 2011). Sesuai dengan ICH, presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu: keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*) (Gandjar dan Rohman, 2016). Nilai CV yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu maksimal 2%.

- 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.

Pedoman ICH menyatakan bahwa pengulangan ditentukan menggunakan setidaknya 9 data hasil penentuan dengan kisaran yang ditentukan untuk prosedur misalkan masing-masing tiga konsentrasi / tiga ulangan atau minimal 6 data penentuan pada konsentrasi 100% (Ravisankar, dkk., 2015). Pengumpulan data presisi sebaiknya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relative (RSD) atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan. Pada umumnya pengujian validasi metode hanya menggunakan dua parameter yaitu keterulangan dan presisi antara, sedangkan reproduibilitas biasanya dilakukan ketika akan melakukan uji banding antar laboratorium. Presisi dinilai dari standar deviasi (SD) atau standar deviasi relative (RSD) dari serangkaian data (Gandjar dan rohman, 2012).

3. Linieritas

Linearitas (*linearity*) merupakan kemampuan suatu metode untuk memberikan hasil yang proporsional terhadap konsentrasi analit pada rentang tertentu (Wenclawiak dan Hadjicostas, 2010). Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar dan rohman, 2016).

4. Batas Deteksi (*limit of detection*)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi (Patel, dkk., 2011). *Limit Of Detection* merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit memiliki nilai di atas atau di bawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ($3S_b$) (Gandjar dan rohman, 2016).

Limit Of Detection diekspresikan sebagai suatu konsentrasi pada rasio signal terhadap derau (*signal to noise ratio*) yang biasanya rasionya 2 atau 3 dibanding 1. *International Conference on Harmonization* (ICH) mengenalkan suatu konversi metode *signal to noise ration* ini, meskipun demikian ICH juga menggunakan 2 metode pilihan lain untuk menentukan LOD yakni: metode non instrumental visual dan dengan metode perhitungan. Metode non instrumental visual digunakan pada teknik kromatografi lapis tipis dan metode titrimetri. Nilai LOD juga dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*, S) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus, $LOD = 3,3 (SD/S)$. standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar intersep y pada garis regresi (Gandjar dan rohman, 2016).

5. Batas Kuantifikasi (*limit of quantification*)

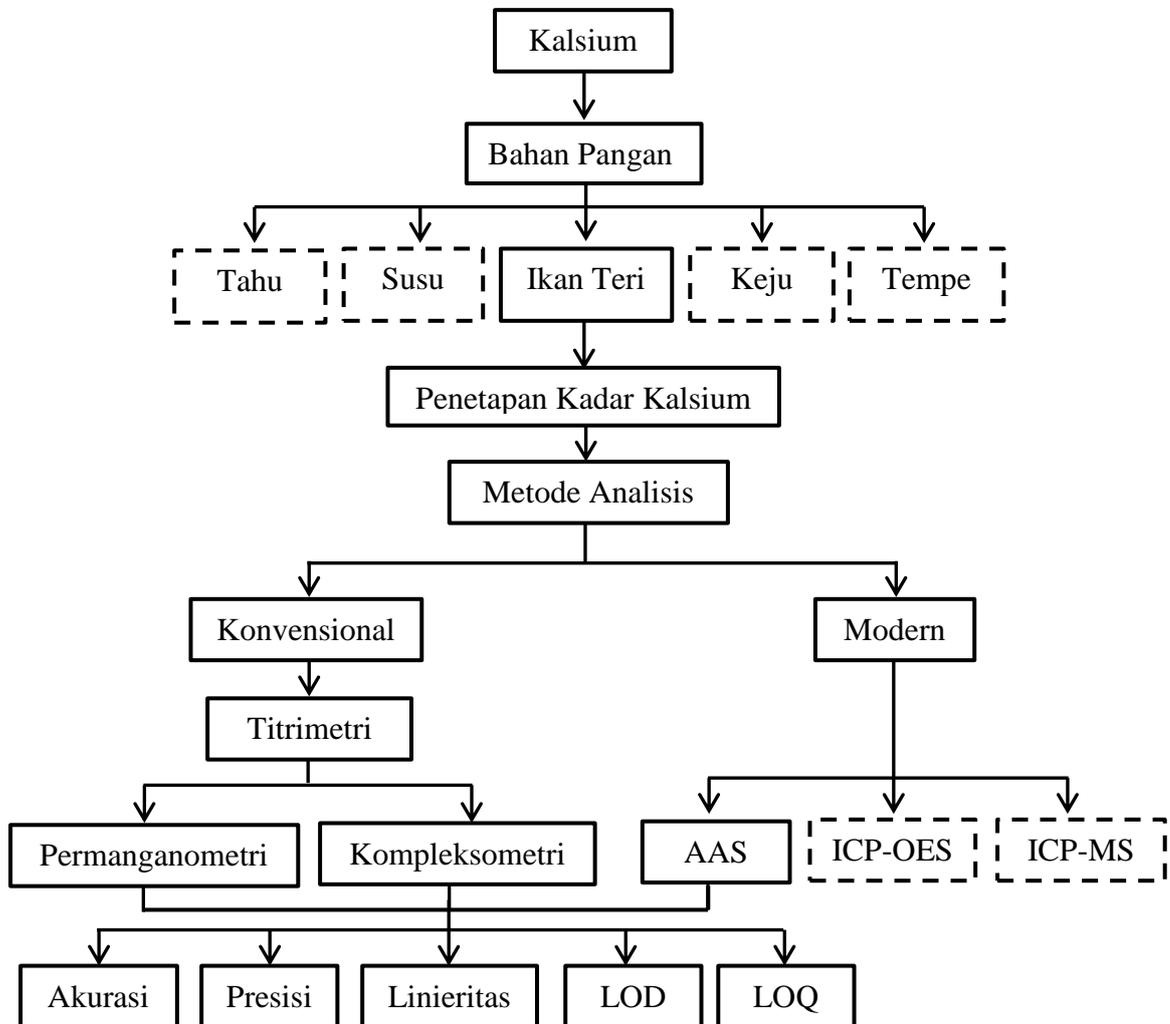
Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Patel, dkk., 2011). Sebagaimana

LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan). Terkadang rasio *signal to noise* 10 : 1 digunakan untuk menentukan LOQ. Perhitungan LOQ dengan rasio *signal to noise* 10 : 1 merupakan aturan umum, meskipun demikian perlu diingat bahwa LOQ merupakan suatu nilai yang diperoleh berdasarkan keterkaitan antara konsentrasi dengan presisi dan akurasi yang dipersyaratkan (Gandjar dan rohman, 2012).

Terdapat dua metode penetapan LOQ yang diperkenalkan oleh ICH yaitu metode non instrumental visual dan metode perhitungan. Metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan *slope* (S) kurva baku sesuai dengan rumus: $LOQ = 10(SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis linier atau dengan standar deviasi intersep-y pada garis regresi (Gandjar dan rohman, 2012).

BAB 3
KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

———— :Variabel yang diteliti

- - - - - :Variabel yang tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Kalsium merupakan nutrisi esensial yang termasuk mineral makro. Beberapa bahan pangan diketahui mengandung kalsium diantaranya, tahu, susu, keju, tempe dan ikan teri (Rahmadani, 2011). Untuk menetapkan kadar kalsium terdapat beberapa metode yang dapat digunakan baik secara konvensional ataupun modern. Metode analisis digunakan untuk mengetahui kandungan suatu zat dalam bahan pangan. Analisis kalsium dapat dilakukan dengan metode titimetri, AAS (*atomic absorption spectrometry*) (Sowmya dkk., 2015), ICP-OES (*inductively couple plasma optical emission spectrometry*) (Kumaravel dan Alagusundaram, 2014) dan ICP-MS (*inductively couple plasma mass spectrometry*) (Poirier dkk., 2016).

Metode yang umum digunakan untuk analisis kadar kalsium adalah AAS dan titrimetri (Petrovich dkk., 2007). Metode titrimetri yang dapat digunakan untuk penetapan kadar kalsium adalah permanganometri dan kompleksometri yang merupakan metode analisis konvensional, sedangkan spektrofotometri serapan atom (AAS) merupakan metode modern. Dalam penelitian ini digunakan ketiga metode tersebut yaitu permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom untuk menetapkan kadar kalsium dalam ikan teri.

Ketiga metode ini dibandingkan untuk mengetahui kemampuan metode dalam menganalisis kalsium sesuai dengan kandungan sebenarnya dalam bahan pangan berdasarkan nilai akurasi, presisi, linieritas, *limit of detection* dan *limit of quantification* dari masing-masing metode. Hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri kemudian dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan kadar kalsium hasil pengukuran dari ketiga metode tersebut.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasional deskriptif. Jenis penelitian observasional digunakan karena peneliti tidak melakukan intervensi terhadap variabel penelitian (Jasaputra dan Santosa, 2008). Penelitian deskriptif merupakan jenis penelitian yang berfungsi untuk mendeskripsikan atau memberi gambaran terhadap objek penelitian melalui data atau sampel yang telah terkumpul sebagaimana adanya (Sugiyono, 2017). Dalam penelitian ini observasi yang dilakukan adalah pengukuran kadar kalsium pada ikan teri dengan tiga metode berbeda yaitu permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sehingga dapat memberikan gambaran perbandingan ketiga metode tersebut dalam penetapan kadar kalsium pada ikan teri.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah ikan teri (*Stolephorus sp.*) yang diperoleh dari penjual ikan teri di Pasar Tegal Dharmasaba, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung, Bali.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah ikan teri (*Stolephorus sp.*) yang dikumpulkan secara *purposive sampling* dengan kriteria inklusi yaitu ikan teri yang sudah dikeringkan, berukuran kecil sampai sedang dengan panjang 3-5 cm. Ikan teri sebanyak 300 gram dibagi menjadi tiga dengan berat sama rata, kemudian dilakukan preparasi sampel untuk selanjutnya dapat dilakukan

penetapan kadar kalsium menggunakan tiga metode yaitu permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya yang terletak di Jalan Karang Menjangan No.18, Surabaya dan Laboratorium Kimia Air, Makanan, dan Minuman Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya yang terletak di Jalan Karangmenjangan 18A, Surabaya. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2018 sampai bulan Juni 2019.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Independent variabel / variabel bebas merupakan suatu variabel yang diteliti atau dilihat pengaruhnya terhadap variabel terikat (*Dependent variabel*) (Sugiyono, 2014). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom yang digunakan untuk menetapkan kadar kalsium dalam ikan teri.

4.4.2 Variabel Terikat

Dependent variabel/ variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas (*Independent variabel*) (Sugiyono, 2014). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kalsium dalam ikan teri (*Stolephorus sp.*)

4.5 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional merupakan suatu uraian tentang batasan variabel yang dimaksud, atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan (Notoatmodjo, 2012). Definisi operasional didasarkan pada karakteristik yang dapat diobservasi berupa istilah yang spesifik (tidak berinterpretasi ganda) dan terukur (*observable* atau *measurable*) (Munith, 2011). Berikut merupakan definisi operasional dalam penelitian ini.

1. Kadar kalsium adalah kadar hasil pengukuran kalsium pada ikan teri yang ditetapkan dengan tiga metode berbeda yaitu permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.
2. Ikan teri (*Stolephorus sp.*) adalah bahan pangan yang mengandung kalsium. Ikan teri yang digunakan adalah ikan teri segar, berukuran kecil sampai sedang dengan kriteria panjang 3-5 cm.
3. Permanganometri merupakan suatu metode analisis volumetri konvensional yang dapat digunakan untuk menetapkan kadar kalsium pada ikan teri yang didasarkan pada reaksi reduksi dan oksidasi menggunakan kalium permanganat sebagai titran.
4. Kompleksometri merupakan suatu metode analisis volumetri konvensional yang digunakan untuk menetapkan kadar kalsium pada ikan teri yang didasarkan pada reaksi pembentukan senyawa kompleks antara ion target dengan zat pengkompleks asam etilen diamin tetra asetat (EDTA).
5. Spektrofotometri serapan atom merupakan metode modern yang digunakan untuk menetapkan kadar kalsium pada ikan teri yang didasarkan pada

penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral, dan sinar yang diserap berupa sinar tampak dan ultraviolet.

4.6 Pengumpulan Data

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer. Data primer diperoleh dengan mengumpulkan data secara langsung dari hasil penelitian di laboratorium. Data dalam penelitian ini dikumpulkan dengan menganalisa kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat

Blender (philips), indikator universal pH 0-14 MColorpHast™, buret (Iwaki-Pyrex®), statif, erlenmeyer (Iwaki-Pyrex®), labu ukur (Iwaki-Pyrex®) 10mL, 50mL dan 100mL, pipet volume (Iwaki-Pyrex®) 5 mL dan 10 mL, pipet tetes, kertas saring Whatman, batang pengaduk, neraca analitik (Radwag), mikropipet 100µl - 1000µl (secorex), ball pipet (b&n ballpipet), gelas ukur (Iwaki-Pyrex®) 250mL, corong (Iwaki-Pyrex®), beaker glass (Iwaki-Pyrex®) 500 mL, Spektrofotometer Serapan Atom (Merk AA 6300 Shimadzu), dan perangkat *microwave* digesti (Merk Milestone).

4.7.2 Bahan

Dinatrium etilen diamin tetra asetat ($\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,05 M, zink sulfat ($\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0,05 M, indikator eriochrome black T, natrium klorida (NaCl) ammonium hidroksida (NH_4OH) (1:4), *standard solution* kalsium, aquadest, kalium permanganat (KMnO_4) 0,1 N, asam oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) 0,05 N, ammonium

oksalat ($C_2H_8N_2O_4$) 4%, asam asetat (CH_3COOH) 1:4, asam nitrat (HNO_3) 65%, asam sulfat (H_2SO_4) 8N, buffer amonium klorida pH 10, asam sulfat (H_2SO_4) encer (1:4), hidrogen peroksida (H_2O_2) 30%, $AgNO_3$ 0,1 M, indikator Metil Merah.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Persiapan reagen

1. Pembuatan variasi konsentrasi larutan standar kalsium

Variasi konsentrasi larutan standar kalsium dibuat dari *standar solution Ca* 1000 ppm yang kemudian dipipet untuk dibuat variasi konsentrasi. Untuk metode titrasi permanganometri dan kompleksometri, larutan standar dipipet sebanyak 4 mL, 8 mL, 12 mL, 16 mL, 20 mL, dan 24 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan sampai tanda batas labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, dan 240 ppm.

Untuk metode spektrofotometri serapan atom, larutan standar kalsium 1000 ppm dipipet sebanyak 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan ditepatkan dengan akuadest bebas mineral hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan 100 ppm tersebut, dipipet masing-masing sebanyak 1 mL, 2 mL, 5 mL dan 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan tersebut kemudian ditepatkan dengan akuadest bebas mineral hingga garis batas, dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1 ppm; 2 ppm; 5 ppm dan 10 ppm.

2. Pembuatan larutan baku primer $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,05 N

Ditimbang sebanyak 0,315 gram asam oksalat. Hasil penimbangan dilarutkan terlebih dahulu ke dalam gelas kimia 100 mL yang berisi 50 mL aquades. Larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu takar 100 mL. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan. Berikut persamaan yang digunakan untuk menghitung massa $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ yang harus ditimbang untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,05 N.

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$N = M \times \text{valensi}$$

Keterangan :

M: Molaritas suatu zat (mol/L)

N: Normalitas larutan

m: massa yang harus ditimbang (gram)

Mr: massa molekul relative $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (126 gr/mol) valensi 2

v: volume larutan yang akan dibuat

3. Pembuatan larutan baku sekunder KMnO_4 0,1 N

Ditimbang sebanyak 3,2 gram kalium permanganat. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 1 L, ditambahkan dengan sedikit aquades dan dihomogenkan. Larutan ditepatkan sampai tanda batas labu ukur. Larutan KMnO_4 dipindahkan ke dalam gelas beker ditutup dan dipanaskan didalam penangas air selama 10-15 menit. Larutan disimpan dalam keadaan tertutup selama 24 jam. Kemudian larutan disaring dengan menggunakan *glasswool* kedalam botol kaca gelap/coklat. Berikut persamaan yang digunakan untuk menghitung massa

KMnO₄ yang harus ditimbang dalam pembuatan larutan dengan konsentrasi kalium permanganat dengan konsentrasi 0,1 N.

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$N = M \times \text{valensi}$$

Keterangan :

M: Molaritas suatu zat (mol/L)

m: massa yang harus ditimbang (gram)

Mr: massa molekul relative KMnO₄ (158 gr/mol), valensi 5

v: volume larutan yang akan dibuat

4. Pembuatan larutan baku primer ZnSO₄·7H₂O 0,05 M

Larutan ZnSO₄·7H₂O dibuat sebanyak 100 mL dengan menimbang 1,437 gram ZnSO₄·7H₂O pada neraca analitik kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, ditambahkan sedikit akuades dan dihomogenkan. Larutan kemudian ditepatkan hingga tanda batas labu ukur. Berikut merupakan persamaan yang digunakan untuk menghitung massa ZnSO₄·7H₂O yang harus ditimbang untuk membuat larutan zink sulfat dengan konsentrasi 0,05 M.

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1000}{v}$$

Keterangan :

M: Molaritas suatu zat (mol/L)

m: massa yang harus ditimbang (gram)

Mr: massa molekul relative ZnSO₄·7H₂O (287,54 gr/mol)

v: volume larutan yang akan dibuat

5. Pembuatan larutan baku sekunder Na₂EDTA 0,05 M

Larutan Na₂EDTA 0,05 M dibuat sebanyak 1 L dengan menimbang 18,8 gram reagen Na₂EDTA pada neraca analitik kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 1 L, ditambahkan sedikit akuades dan dihomogenkan. Larutan kemudian ditepatkan hingga tanda batas labu ukur. Persamaan yang digunakan untuk menghitung massa Na₂EDTA yang harus ditimbang untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,05 M sama dengan persamaan untuk menghitung massa larutan baku primer ZnSO₄·7H₂O.

6. Standarisasi KMnO₄ dengan H₂C₂O₄·2H₂O

Sebanyak 100 mL aquades dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, dipanaskan hingga suhu 70 °C, ditambahkan 5 mL larutan asam sulfat 8 N dan 10 mL larutan baku asam oksalat 0,05 N. Dititrasi dengan larutan baku kalium permanganat 0,1 N sampai warna merah muda dan dicatat volume pemakaian. Pembakuan KMnO₄ dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Berikut merupakan persamaan yang digunakan untuk menentukan normalitas KMnO₄.

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

N₁ = Normalitas H₂C₂O₄

V₁ = Volume H₂C₂O₄

N₂ = Normalitas KMnO₄

V₂ = Volume KMnO₄

7. Standarisasi Na₂EDTA dengan ZnSO₄·7H₂O

Dipipet 10 mL larutan baku primer ZnSO₄·7H₂O 0,05 M dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan 5 mL buffer amonium klorida pH 10.

Penambahan indikator Eriochrome Black T (EBT) 1% (b/b) sebanyak 50 mg dilakukan pada saat titrasi dimulai. Titik akhir titrasi ditandai perubahan warna dari merah keunguan menjadi biru. Pembakuan larutan Na₂EDTA dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Berikut merupakan persamaan yang digunakan untuk menentukan molaritas dari Na₂EDTA.

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

M_1 = Molaritas ZnSO₄.7H₂O

V_1 = Volume ZnSO₄.7H₂O

M_2 = Molaritas Na₂EDTA

V_2 = Volume Na₂EDTA

4.8.2 Preparasi sampel

Sebanyak 100 gram sampel ikan teri diblender sehingga diperoleh ikan teri dalam bentuk serbuk, kemudian ditimbang \pm 2,5 gram sampel dan didestruksi dengan menambahkan HNO₃ 65% 10 mL, dan H₂O₂ 30% 5 mL dimasukkan ke dalam vessel, lalu vessel dimasukkan ke dalam *High Performance Microwave Digestion System* dan didestruksi selama 45 menit pada suhu 180 °C sampai didapatkan larutan dalam keadaan jernih dan terlarut, cairan tersebut dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan diadd hingga 50 mL. Larutan hasil destruksi tersebut ditampung pada botol kaca. Hasil destruksi dalam bentuk larutan ini digunakan sebagai sampel yang diuji dengan tiga metode berbeda yaitu metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom (Susanti, 2016).

4.8.3 Penetapan Kadar Kalsium

1. Metode Titrasi Permanganometri

a. Prinsip pemeriksaan

Kalsium yang merupakan unsur mineral dan bahan anorganik, didestruksi dengan bantuan oksidator asam nitrat pekat dan H_2O_2 30% untuk menghilangkan bahan organik dalam sampel, kemudian kalsium diendapkan terlebih dahulu sebagai kalsium oksalat lalu endapannya dilarutkan dalam H_2SO_4 (1:4) encer dan dititrasi dengan KMnO_4 0,1 N yang bertindak sebagai oksidator. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya warna larutan merah jambu pertama yang tidak hilang selama 15 detik (Yenrina, 2015).

b. Penetapan kadar kalsium dalam sampel

Sebanyak 20 mL sampel dimasukkan dalam labu erlenmeyer 250 mL lalu ditambah 50 mL aquades. Larutan ditambahkan 2 tetes indikator metil merah dan 20 mL ammonium oksalat 4% (berlebih atau secukupnya hingga ammonium oksalat mampu mengendapkan kalsium semuanya). Larutan ditambahkan sedikit ammonia encer untuk menetralkan dan menggeser reaksi ke arah pembentukan produk sehingga peluang terbentuknya endapan kalsium oksalat lebih besar dan warna larutan berubah menjadi kuning, kemudian buat larutan menjadi sedikit asam dengan menambah beberapa tetes asam asetat 10% sampai warna larutan merah muda.

Larutan dipanaskan sampai mendidih untuk menghilangkan ion-ion pengganggu lalu didiamkan 24 jam. Larutan disaring menggunakan kertas whatman dan dibilas beberapa kali dengan 100 mL akuades panas sehingga filtrat bebas klorida dan oksalat. Untuk memastikan filtrat bebas dari kalsium oksalat,

diuji filtrat dengan ammonium oksalat dan larutan kalsium. Apabila penambahan ammonium oksalat tidak menyebabkan terbentuknya endapan, maka filtrat bebas dari endapan kalsium oksalat. Adanya oksalat juga diuji dengan menambahkan larutan kalsium. Apabila penambahan kalsium pada filtrat larutan tetap jernih dan tidak keruh menunjukkan filtrat bebas oksalat.

Cara memastikan endapan bebas klorida adalah dengan menguji air bilasan terakhir menggunakan larutan AgNO_3 . Apabila terdapat ion Cl^- pada air bilasan, ion tersebut akan bereaksi dengan AgNO_3 dan membentuk endapan AgCl yang berwarna putih, sehingga apabila air bilasan terakhir masih berwarna keruh seperti air kapur, maka perlu dilakukan pembilasan ulang hingga air bilasan yang diuji dengan AgNO_3 berwarna jernih.

Endapan dipindahkan kedalam labu erlenmeyer lain dengan cara ujung kertas saring dilubangi dengan pengaduk gelas lalu dibilas dan dilarutkan dengan 20 mL asam sulfat panas encer (1:4). Dalam keadaan panas ($70-80^\circ\text{C}$), larutan dititrasikan dengan larutan baku KMnO_4 0,1 N sampai terbentuk warna larutan merah jambu pertama yang tidak hilang selama 15 detik. Kadar kalsium dihitung berdasarkan banyaknya volume larutan baku KMnO_4 yang digunakan untuk titrasi (Yenrina, 2015).

$$\text{Kadar Kalsium (mg/Kg)} = \frac{VKMnO4 \times NKMnO4 \times Be Ca \times volume larutan abu \times 1000}{V sampel yang digunakan \times b sampel yang diabukan}$$

c. Uji akurasi

Uji akurasi dinyatakan dengan nilai uji perolehan kembali (UPK). Uji perolehan kembali dinyatakan dalam presentase (%) *recovery* yang didapatkan dari perhitungan antara konsentrasi hasil pengukuran dengan konsentrasi

sebenarnya. Untuk menetapkan nilai uji perolehan kembali dapat dilakukan dengan menggunakan metode adisi.

Metode adisi dilakukan dengan penambahan larutan standar ke dalam sampel dan tanpa penambahan standar ke dalam sampel (berfungsi sebagai blangko). Dalam penelitian ini nilai akurasi dari masing-masing metode ditetapkan dengan cara mengukur kadar sampel yang ditambahkan dengan standar pada tiga variasi konsentrasi, yaitu konsentrasi rendah, sedang dan tinggi sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh *International Conference on Harmonization*.

Untuk uji perolehan kembali, sampel yang telah didestruksi dipipet dan diletakkan pada 4 labu ukur 50 mL yang berbeda-beda dengan volume 25 mL pada masing-masing labu ukur. Kelompok pertama, tidak ditambahkan larutan standar kalsium (berfungsi sebagai blangko). Pada kelompok kedua, ketiga dan keempat ditambahkan secara berturut-turut sebanyak 2,5 mL; 5 mL dan 10 mL dari larutan standar kalsium konsentrasi 1000 ppm. Labu ukur dicukupkan volumenya hingga garis batas dengan aquadest bebas mineral, sehingga didapatkan konsentrasi akhir penambahan pada kelompok kedua, ketiga dan keempat secara berturut-turut 50 ppm; 100 ppm dan 200 ppm.

Sebanyak 20 mL larutan dipindahkan ke erlenmeyer 250 mL lalu ditambah 50 mL aquades, 2 tetes indikator metil merah dan 20 mL larutan ammonium oksalat 4% (berlebih atau secukupnya hingga ammonium oksalat mampu mengendapkan kalsium semuanya). Larutan dinetralkan dengan penambahan ammonia encer, kemudian ditambahkan beberapa tetes asam asetat sampai warna larutan merah muda. Larutan dipanaskan sampai mendidih lalu didiamkan 24 jam.

Larutan disaring menggunakan kertas whatman dan dibilas beberapa kali dengan akuades sehingga filtrat bebas oksalat dan klorida.

Cairan jernih diuji dengan ammonium oksalat. Endapan dipindahkan kedalam labu erlenmeyer lain dengan cara ujung kertas saring dilubangi dengan batang pengaduk lalu dibilas dan dilarutkan dengan asam sulfat panas. Dalam keadaan panas (70-80°C), larutan dititrasi dengan larutan baku KMnO_4 0,1 N sampai terbentuk warna larutan merah jambu pertama yang tidak hilang selama 15 detik. Kadar kalsium dihitung berdasarkan banyaknya volume larutan baku KMnO_4 yang digunakan untuk titrasi.

Titrasi dilakukan sebanyak dua kali ulangan pada sampel yang ditambahkan dengan standar pada tiga konsentrasi dan tiga replikasi sehingga diperoleh 9 data sesuai dengan standar perhitungan % *recovery* yang ditetapkan oleh *International Conference on Harmonization*. Berikut ini rumus perhitungan untuk memperoleh nilai perolehan kembali:

$$\% \text{ recovery} = \frac{C_2 - C_1}{S} \times 100\%$$

Keterangan :

C1 = kadar sampel yang tidak ditambah standar

C2 = kadar sampel yang ditambah standar

S = kadar standar yang ditambahkan

d. Uji presisi

Uji presisi dalam penelitian ini ditetapkan dengan melakukan pengukuran sampel (konsentrasi 100%) dengan 6 kali ulangan (Ravisankar, dkk., 2015). Uji presisi ditentukan dengan membandingkan koefisien varian (*Coefficient of*

Variation/ CV) hasil analisis dengan CV yang dipersyaratkan oleh AOAC (2012).

Berikut merupakan rumus perhitungan standar deviasi dan koefisien variasi:

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

$$CV = \frac{SD}{\text{Rata-rata}} \times 100\%$$

Keterangan:

CV analisis = Koefisien varian hasil analisis (%)

SD = Standar deviasi kadar kalsium (mg/100 mL)

\bar{X} = Rata-rata kadar kalsium (mg/100 mL)

e. Uji linieritas

Linearitas (*linearity*) ditentukan dengan menggunakan larutan standar kalsium pada enam konsentrasi berbeda, yaitu 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, dan 240 ppm. Sebanyak 20 mL dari masing-masing variasi konsentrasi, dititrasikan sesuai dengan prosedur kerja penetapan kadar kalsium pada sampel. Dilakukan tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasi.

Data hasil pengukuran berupa volume titran dan konsentrasi standar disajikan dalam bentuk tabel dan diplot ke dalam grafik regresi linier untuk mengetahui persamaan regresi dan nilai R^2 . Linieritas diukur dengan nilai R^2 dari kurva hubungan antara volume larutan KMnO_4 0,1N (sebagai sumbu y) yang digunakan untuk titrasi dengan konsentrasi larutan standar kalsium (ppm) (sebagai sumbu x). Nilai linieritas yang baik adalah R^2 lebih dari 0,99 (AOAC, 2012).

f. Uji *limit of detection* dan Uji *limit of quantification*

Batas deteksi (*limit of detection*) merupakan konsentrasi terkecil dari analit yang dapat dideteksi tetapi belum dapat dikuantifikasi secara benar, sedangkan

batas kuantifikasi (*limit of quantification*) merupakan konsentrasi terendah dari analit yang dapat ditentukan dengan akurasi dan presisi yang baik. Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan dengan menggunakan larutan standar kalsium dan dihitung berdasarkan data pengukuran yang diperoleh dari uji linieritas yaitu pada konsentrasi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, dan 240 ppm secara statistik. Berikut ini rumus untuk perhitungan nilai batas deteksi dan batas kuantifikasi.

$$\text{LOD} = \frac{3S_{(y/x)}}{b}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10S_{(y/x)}}{b}$$

Keterangan : Nilai b merupakan nilai kemiringan (*slope*) dari persamaan kurva kalibrasi $y = a + bx$ dan $S_{(y/x)}$ diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut, (Harmita, 2006 dalam Noriyanti, 2012).

$$S_{(y/x)} = \sqrt{\sum \frac{(y-y_i)^2}{n-2}}$$

2. Titrasi Kompleksometri

a. Prinsip pemeriksaan

Kalsium akan membentuk kompleks 1:1 dengan Na_2EDTA pada suasana basa. Setelah Na_2EDTA habis bereaksi dengan kalsium dalam sampel pada titik ekuivalen, maka kelebihan sedikit Na_2EDTA akan menyebabkan kompleks logam dengan indikator pecah dan menghasilkan perubahan warna dari merah keunguan menjadi biru sebagai penanda titik akhir titrasi (Gandjar dan Rohman, 2012).

b. Penetapan kadar kalsium sampel

Sebanyak 20 mL larutan sampel hasil destruksi ikan teri dipipet ke dalam erlenmeyer. Nilai pH larutan yang akan dititrasi diatur dengan menambahkan 5

mL buffer amonium klorida pH 10. Larutan ditambahkan indikator *Eriochrome Black T* (EBT) 1% (b/b) sebanyak 50 mg, dititrasi sampel dengan menggunakan larutan Na₂EDTA 0,05 M yang sudah distandarisasi. Titik akhir titrasi ditandai perubahan warna dari merah keunguan menjadi biru (Taufik, 2018).

$$\text{Kadar Kalsium (mg/Kg)} = \frac{V_{\text{Na}_2\text{EDTA}} \times M_{\text{Na}_2\text{EDTA}} \times 40.08 \times \text{volume larutan abu} \times 1000}{V_{\text{sampel yang digunakan}} \times b_{\text{sampel yang diabukan}}}$$

c. Uji akurasi

Uji akurasi dinyatakan dengan uji perolehan kembali (UPK). Uji perolehan kembali dilakukan dengan menggunakan metode adisi, yaitu penambahan larutan standar ke dalam sampel dan tanpa penambahan larutan standar ke dalam sampel (sebagai blangko). Dilakukan dengan cara mengukur kadar kalsium dari sampel yang ditambahkan dengan standar pada tiga konsentrasi, yaitu konsentrasi rendah, sedang dan tinggi.

Untuk uji perolehan kembali, sampel yang telah didestruksi dipipet dan diletakkan pada 4 labu ukur 50 mL yang berbeda-beda dengan volume 25 mL pada masing-masing labu ukur. Kelompok pertama, tidak ditambahkan larutan standar kalsium (berfungsi sebagai blangko). Pada kelompok kedua, ketiga dan keempat ditambahkan secara berturut-turut sebanyak 2,5 mL; 5 mL dan 10 mL dari larutan standar kalsium konsentrasi 1000 ppm. Labu ukur dicukupkan volumenya hingga garis batas dengan aquadest bebas mineral, sehingga didapatkan konsentrasi akhir penambahan pada kelompok kedua, ketiga dan keempat secara berturut-turut 50 ppm; 100 ppm dan 200 ppm.

Larutan dipindahkan ke erlenmeyer. pH larutan yang akan dititrasi diatur dengan menambahkan 5 mL buffer amonium klorida pH 10. Larutan ditambahkan indikator *Eriochrome Black T* (EBT) 1% (b/b) sebanyak 50 mg, kemudian dititrasi

sampel dengan menggunakan larutan Na_2EDTA 0,05 M yang sudah distandarisasi. Titik akhir titrasi ditandai perubahan warna dari merah keunguan menjadi biru. Titrasi diulangi sebanyak dua kali kemudian dicatat volume Na_2EDTA yang digunakan. Untuk mengetahui nilai akurasi dilakukan perhitungan menggunakan rumus yang sama dengan metode sebelumnya.

d. Uji presisi

Uji presisi dalam penelitian ini ditetapkan dengan melakukan pengukuran pada sampel konsentrasi 100% dengan 6 kali ulangan. Uji presisi ditentukan dengan membandingkan koefisien varian (*Coefficient of Variation/CV*) hasil analisis dengan CV yang dipersyaratkan oleh AOAC (2012), yaitu $< 2\%$. Untuk memperoleh nilai presisi dilakukan perhitungan menggunakan rumus yang sama dengan metode sebelumnya.

e. Uji linieritas

Linearitas (*linearity*) ditentukan dengan menggunakan larutan standar kalsium pada enam konsentrasi berbeda, yaitu 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, dan 240 ppm. Sebanyak 20 mL dari masing-masing larutan tersebut dititrasi dengan menggunakan larutan Na_2EDTA 0,05 M yang sudah dibakukan. Titrasi dilakukan tiga kali ulangan pada setiap konsentrasi. Linieritas diukur dengan nilai R^2 dari kurva hubungan antara volume larutan Na_2EDTA (sebagai sumbu y) yang digunakan untuk titrasi dengan konsentrasi larutan standar kalsium (ppm) (sebagai sumbu x). Linieritas yang baik adalah R^2 lebih dari 0,99 (AOAC, 2012).

f. Uji *limit of detection* dan Uji *limit of quantification*

Batas deteksi (*limit of detection*) dan batas kuantifikasi (*limit of quantification*) ditentukan dengan menggunakan larutan standar kalsium dan dihitung berdasarkan data pengukuran yang diperoleh dari uji linieritas secara statistik. Untuk memperoleh nilai *limit of detection* dan *limit of quantification* dari metode kompleksometri, dilakukan perhitungan menggunakan rumus yang sama dengan metode sebelumnya.

3. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

a. Prinsip pemeriksaan

Cahaya diserap oleh atom bebas dari suatu unsur pada tingkat energi terendah (*ground state*). Keadaan *ground state* dari sebuah atom adalah keadaan semua elektron yang dimiliki unsur tersebut memiliki konfigurasi yang stabil. Saat cahaya diserap oleh atom, satu atau lebih elektron tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Penyerapan energi cahaya ini berlangsung pada panjang gelombang yang spesifik untuk setiap logam dan mengikuti hukum *Lambert Beer*, yaitu serapan berbanding lurus dengan konsentrasi (Welz, 2005 dalam Noriyanti, 2012).

b. Kurva Kalibrasi Kalsium

Larutan standar kalsium 1000 ppm dipipet sebanyak 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan ditepatkan dengan akuades bebas mineral hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan 100 ppm tersebut, dipipet masing-masing sebanyak 1 mL, 2 mL, 5 mL dan 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL.

Larutan tersebut kemudian ditepatkan dengan akuadest bebas mineral hingga garis batas, dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1 ppm; 2 ppm; 5 ppm dan 10 ppm. Larutan standar kalsium tersebut masing-masing diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm, kemudian diplot ke dalam kurva regresi linier (Noriyanti, 2012).

c. Penetapan kadar kalsium pada sampel

Pengukuran sampel dilakukan setelah pembuatan kurva kalibrasi larutan standar kalsium dengan konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Sampel hasil destruksi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 422,7 nm, kemudian absorbansi yang diperoleh disubstitusikan ke dalam persamaan kurva kalibrasi dengan mensubstitusi nilai (y) dari persamaan regresi linier sehingga didapatkan kadarnya (Noriyanti, 2012).

d. Uji akurasi

Uji akurasi dinyatakan dengan uji perolehan kembali (UPK). Uji perolehan kembali dilakukan dengan menggunakan metode adisi, yaitu penambahan larutan standar ke dalam sampel dan tanpa penambahan larutan standar ke dalam sampel (sebagai blangko). Dilakukan dengan cara mengukur serapan dari sampel yang ditambahkan dengan standar pada tiga konsentrasi, yaitu konsentrasi rendah, sedang dan tinggi.

Untuk uji perolehan kembali, sampel yang telah didestruksi dipipet sebanyak 20 mL yang dibagi menjadi 4 kelompok dan diletakkan pada labu ukur 10 mL yang berbeda-beda dengan volume 5 mL sampel pada masing-masing labu ukur. Kelompok pertama, tidak ditambahkan larutan standar kalsium (berfungsi

sebagai blangko). Pada kelompok kedua, ketiga dan keempat ditambahkan secara berturut-turut sebanyak 200 µl; 500 µl dan 1000 µl dari larutan standar kalsium konsentrasi 100 ppm. Labu ukur dicukupkan volumenya hingga garis batas dengan akuadest bebas mineral, sehingga didapatkan konsentrasi akhir 2 ppm; 5 ppm dan 10 ppm.

Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada sampel yang ditambahkan dengan standar sehingga diperoleh sembilan data sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh *International Conference on Harmonization*. Nilai absorbansi yang diperoleh dicatat, kemudian dihitung konsentrasi masing-masing bagian dan dihitung % *recovery*. Untuk memperoleh nilai akurasi dari metode spektrofotometri serapan atom, dilakukan perhitungan menggunakan rumus yang sama dengan metode sebelumnya.

e. Uji presisi

Uji presisi dalam penelitian ini ditetapkan dengan melakukan pengukuran pada sampel konsentrasi 100% sebanyak 6 kali ulangan. Uji presisi ditentukan dengan membandingkan koefisien varian (*Coefficient of Variation/CV*) hasil analisis dengan CV yang dipersyaratkan oleh AOAC (2012). Untuk memperoleh nilai presisi dari metode spektrofotometri serapan atom, dilakukan perhitungan menggunakan rumus yang sama dengan metode sebelumnya.

f. Uji linieritas

Linearitas (*linearity*) ditentukan dengan menggunakan larutan standar kalsium pada enam konsentrasi berbeda, yaitu 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Hasil plot kurva kalibrasi dihitung untuk mendapatkan faktor kelinearan garis, yaitu r . Linieritas diukur dengan nilai R^2 dari kurva hubungan antara

absorbansi (sebagai sumbu y) dengan konsentrasi larutan standar kalsium (ppm) (sebagai sumbu x).

g. Uji *limit of detection* dan *limit of quantification*

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) diperoleh dari perhitungan persamaan kurva kalibrasi secara statistik. Berikut ini rumus untuk perhitungan nilai batas deteksi dan batas kuantifikasi:

$$\text{LOD} = \frac{3S(y/x)}{b}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10S(y/x)}{b}$$

Keterangan :

Nilai b merupakan nilai kemiringan (*slope*) dari persamaan kurva kalibrasi $y = a + bx$ dan $S(y/x)$ diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut, (Harmita, 2006 dalam Noriyanti, 2011).

$$S_{(y/x)} = \sqrt{\sum \frac{(y-y_i)^2}{n-2}}$$

4.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif yang bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Data yang diperoleh dikumpulkan, dikelompokkan, diolah, dan kemudian disajikan dalam bentuk tabel, grafik serta diberi narasi.

Dalam penelitian ini analisis data juga dilakukan secara statistik yang bertujuan untuk membandingkan metode permanganometri, kompleksometri, dan spektrofotometri serapan atom dalam penetapan kadar kalsium pada ikan teri. Ketiga metode dibandingkan menggunakan uji beda. Terdapat tiga kelompok data yang diuji dalam penelitian ini yaitu; kadar kalsium ikan teri hasil penetapan

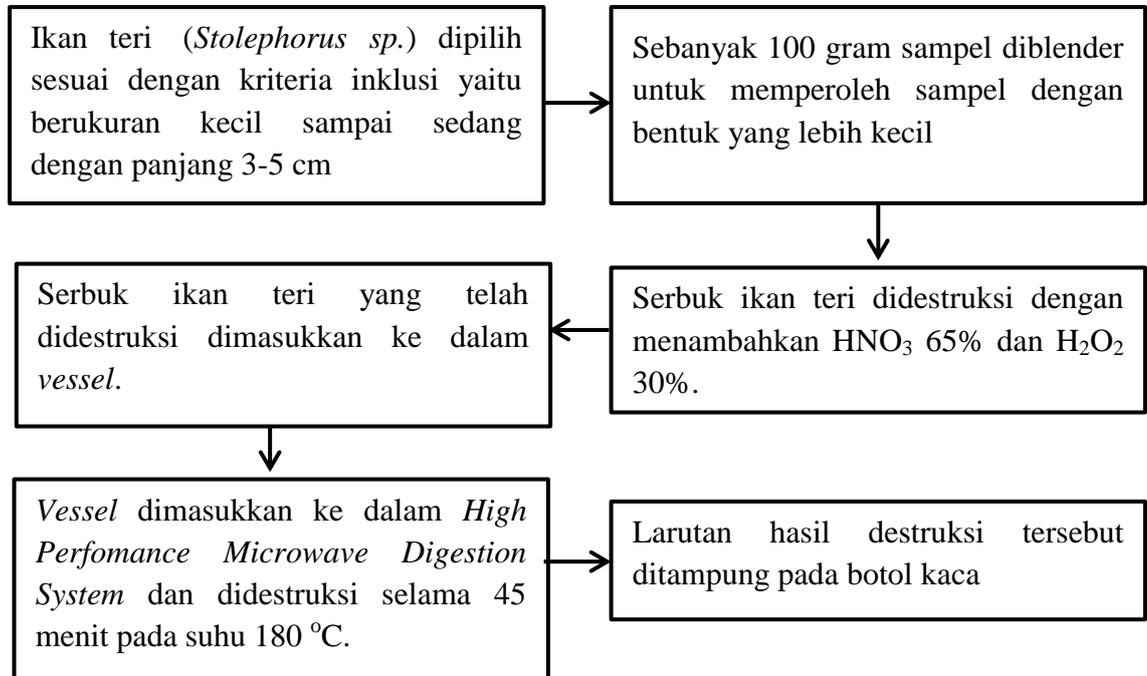
dengan menggunakan metode permanganometri, kadar kalsium hasil penetapan dengan metode kompleksometri dan kadar kalsium hasil penetapan dengan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom dengan skala data rasio.

Untuk menguji data berdistribusi normal atau tidak normal digunakan uji *kolmogorov smirnov*. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri dengan variabel bebas metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom apabila data berdistribusi normal digunakan uji *one way anova*, sedangkan apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji *kruskal wallis* untuk dapat membandingkan hasil penetapan kadar secara simultan.

Dalam uji *one way anova* dan *kruskal wallis*, kesimpulan analisis akan dinyatakan terdapat perbedaan apabila minimal satu pasang kelompok data yang berbeda, sehingga untuk mengetahui pada metode mana yang memiliki perbedaan hasil penetapan kadar kalsium yang signifikan secara statistik digunakan uji *post hoc LSD (Least Significant Deference)* apabila data berdistribusi normal. Sementara apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji *Mann-Whitney*.

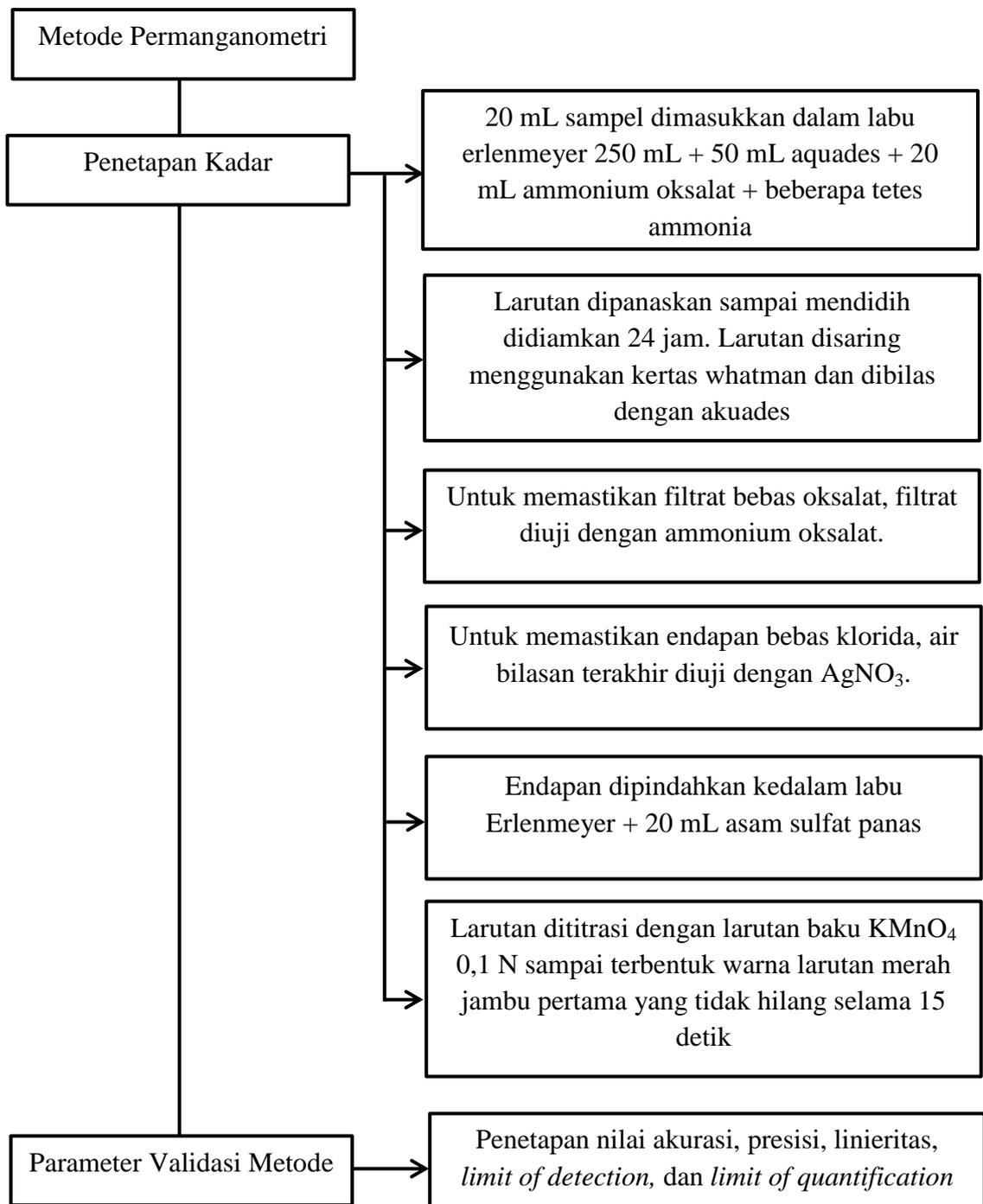
4.10 Kerangka Operasional

4.10.1 Preparasi Sampel Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)



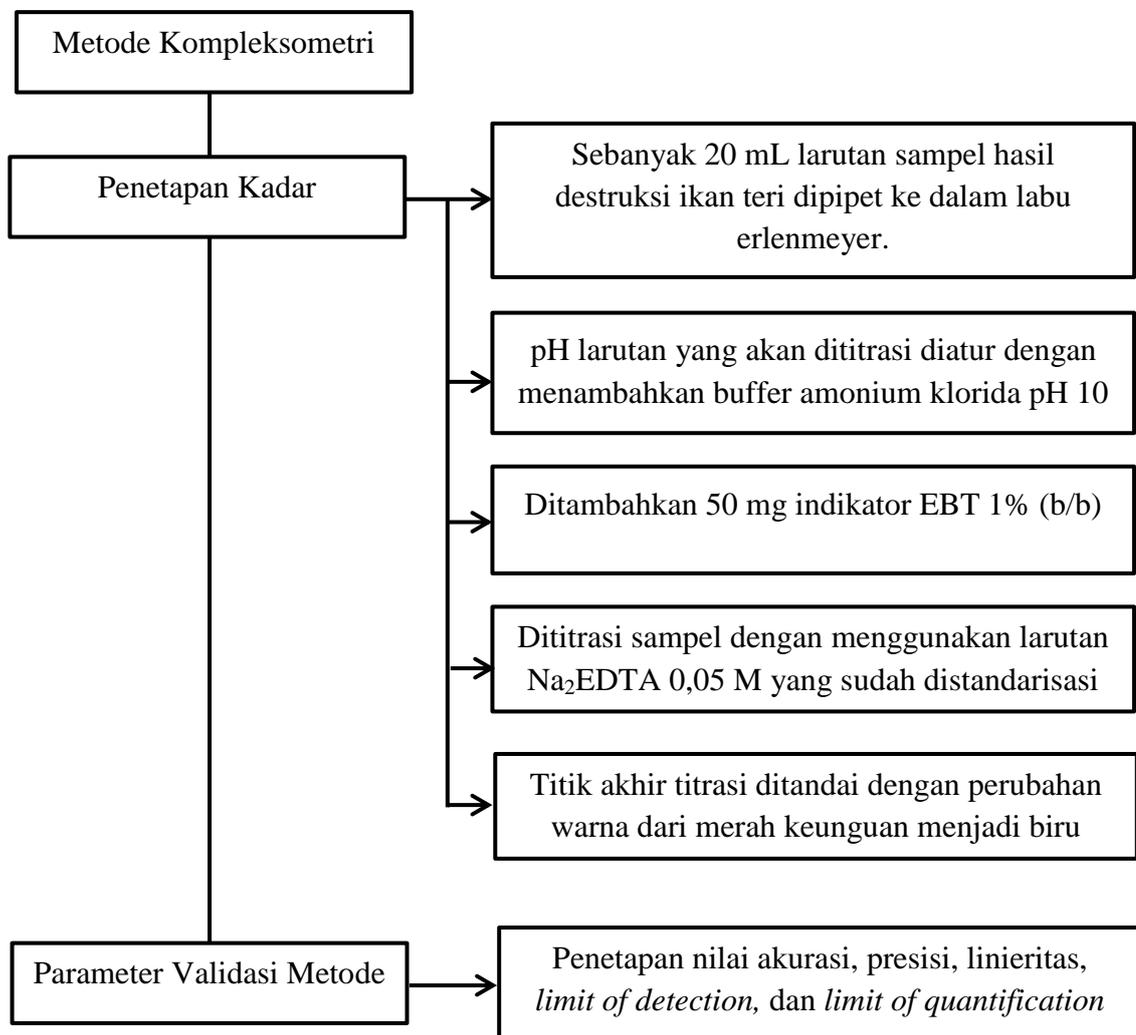
Gambar 4.1 Kerangka Operasional Proses Preparasi Sampel Ikan Teri

4.10.2 Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Permanganometri



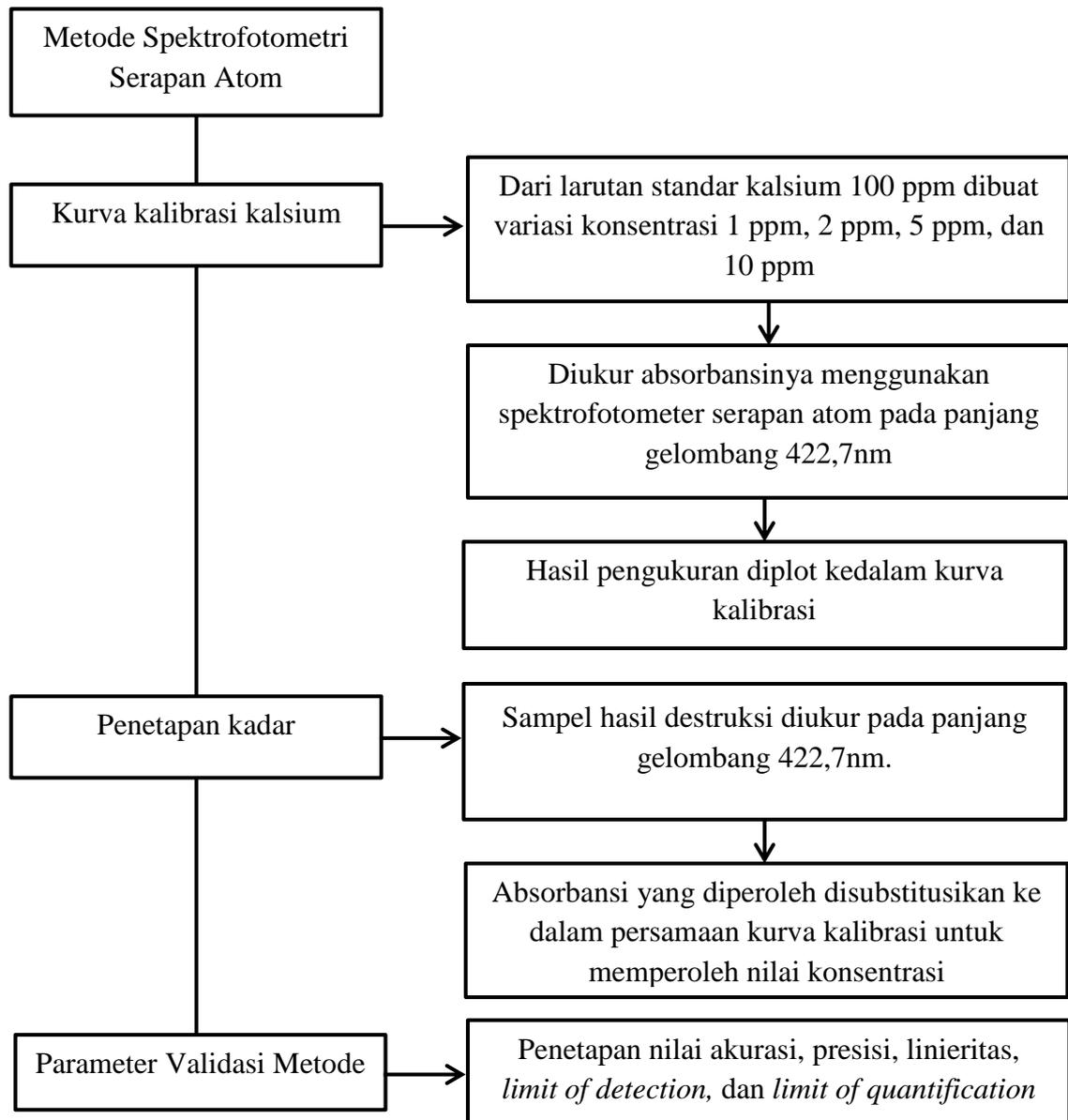
Gambar 4.2 Kerangka Operasional Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Permanganometri

4.10.3 Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Kompleksometri



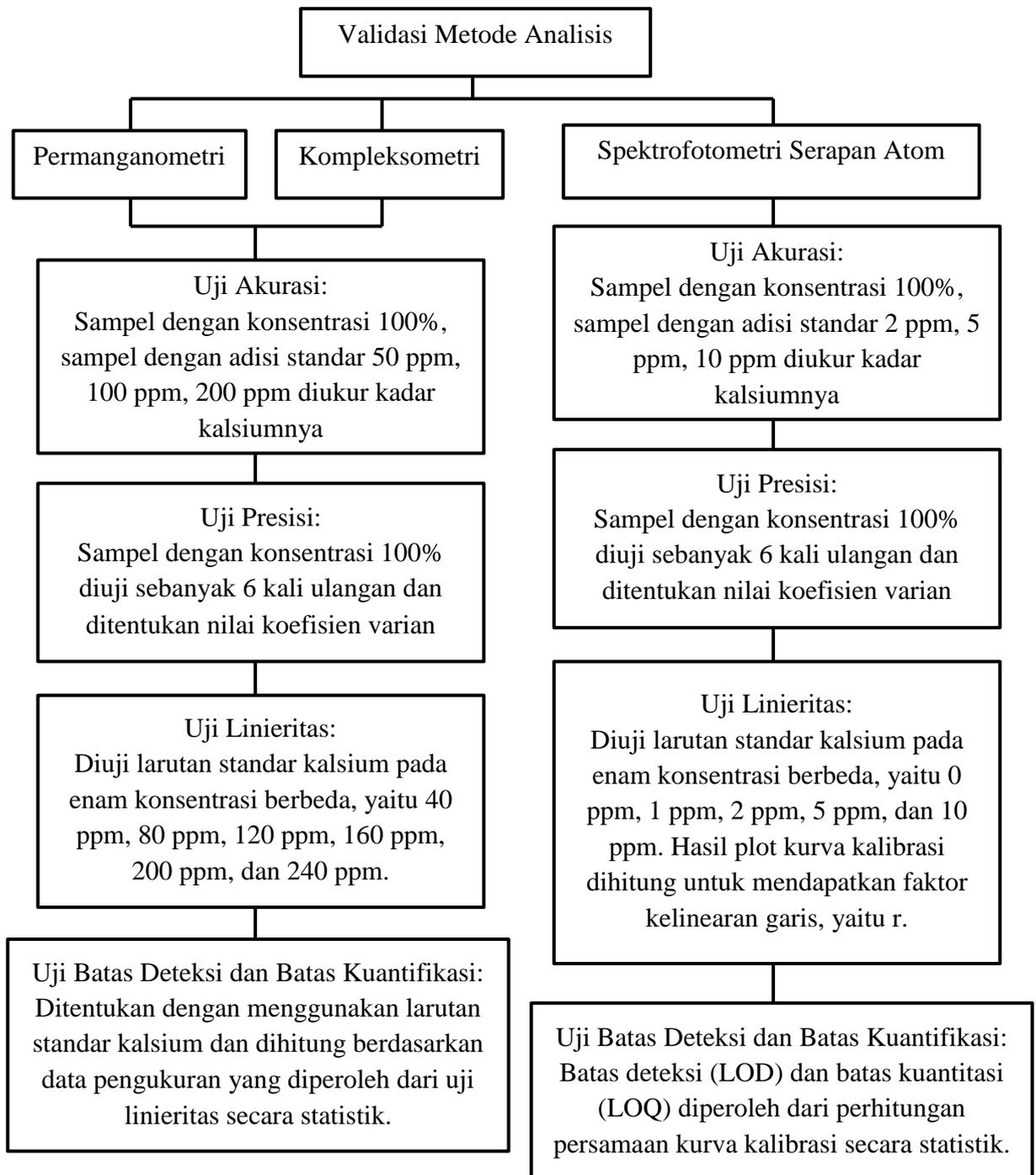
Gambar 4.3 Kerangka Operasional Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Kompleksometri

4.10.4 Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Serapan Atom



Gambar 4.4 Kerangka Operasional Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Serapan Atom

4.10.5 Validasi Metode Analisis Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom



Gambar 4.5 Kerangka Operasional Validasi Metode Analisis Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Persiapan Sampel dan Penetapan Kadar Kalsium Ikan Teri

Bahan pemeriksaan dalam penelitian ini adalah ikan teri (*Stolephorus sp.*) yang diperoleh dari penjual ikan teri di Pasar Desa Adat Tegal Dharmasaba, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung, Bali, dikumpulkan secara *purposive sampling* dengan kriteria inklusi yaitu ikan teri yang sudah dikeringkan, berukuran kecil sampai sedang dengan panjang 3-5 cm. Ikan teri sebanyak 300 gram dibagi menjadi tiga dengan berat masing-masing 100 gram, kemudian dilakukan preparasi sampel yaitu dihaluskan dan didestruksi untuk tiga kali replikasi.

Dalam penelitian ini dilakukan penetapan kadar kalsium pada ikan teri menggunakan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom serta pengukuran nilai akurasi, presisi, linieritas, *limit of detection* dan *limit of quantification* dari masing-masing metode. Volume sampel hasil destruksi yang dibutuhkan untuk satu kali replikasi dan 3 metode adalah ± 500 mL, ikan teri yang dibutuhkan dalam setiap 50 mL hasil destruksi adalah $\pm 2,5$ gram, sehingga kebutuhan ikan teri untuk satu kali replikasi ± 25 gram. Total kebutuhan ikan teri untuk tiga kali replikasi dan tiga metode adalah ± 75 gram sampel ikan teri (*Stolephorus sp.*) yang sudah dihaluskan. Setelah diperoleh sampel pemeriksaan dalam bentuk cairan jernih hasil destruksi, sampel diperiksa dengan masing-masing metode.

Hasil penetapan kadar kalsium pada ikan teri (*Stolephorus sp.*) dari masing-masing metode kemudian dibandingkan menggunakan uji beda untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna secara statistik hasil penetapan

kadar kalsium dari ketiga metode tersebut. Pengukuran kadar dilakukan tiga kali replikasi dengan tiga ulangan pada masing-masing metode.

5.1.1 Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Permanganometri

Pada metode permanganometri, kadar kalsium ditentukan menggunakan larutan KMnO_4 0,1 N. Hasil pengukuran kadar kalsium pada ikan teri (*Stolephorus sp.*) dengan menggunakan metode permanganometri tiga kali replikasi dan tiga kali ulangan dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri

Ulangan	Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) (mg/Kg)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	1665,17	1687,00	1581,82
2	1665,17	1750,26	1539,64
3	1727,61	1750,26	1581,82
Rerata \pm SD	1685,98 \pm 36,05	1729,17 \pm 36,52	1567,76 \pm 24,35

Berdasarkan data Tabel 5.1 dapat diketahui bahwa dari sembilan data hasil penetapan kadar kalsium ikan teri diperoleh rata-rata antara 1567,76 sampai 1729,17 mg/Kg. Kadar kalsium terendah ditunjukkan pada replikasi 3 ulangan ke 2 dengan nilai 1539,64 mg/Kg, sedangkan kadar kalsium tertinggi ditunjukkan oleh data replikasi 2 ulangan ke 2 dan 3 dengan nilai 1750,26 mg/Kg.

5.1.2 Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Kompleksometri

Kadar kalsium ikan teri pada metode kompleksometri ditentukan menggunakan larutan Na_2EDTA 0,05 M. Hasil pengukuran kadar kalsium pada ikan teri dengan menggunakan metode kompleksometri tiga kali replikasi dan tiga kali ulangan dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Kompleksometri

Ulangan	Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) (mg/Kg)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	1158,34	1280,42	1280,21
2	1116,22	1280,42	1258,87
3	1158,34	1259,08	1280,21
Rerata \pm SD	1144,30 \pm 24,31	1273,31 \pm 12,32	1273,09 \pm 12,31

Data pada Tabel 5.2 menunjukkan bahwa hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode kompleksometri diperoleh nilai rata-rata antara 1144,30 mg/Kg sampai 1273,31 mg/Kg. Kadar kalsium terendah ditunjukkan pada replikasi 1 ulangan ke 3 dengan nilai 1158,34 mg/Kg, sedangkan kadar kalsium tertinggi ditunjukkan oleh data replikasi 2 ulangan ke 1 dan 2 dengan nilai 1280,42 mg/Kg.

5.1.3 Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Hasil pengukuran kadar kalsium pada ikan teri dengan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm, tiga kali replikasi dan tiga kali ulangan dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Ulangan	Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) (mg/Kg)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	1232,79	1273,58	1239,42
2	1249,27	1210,27	1256,68
3	1240,86	1272,13	1263,74
Rerata \pm SD	1240,97 \pm 8,24	1251,99 \pm 36,14	1253,28 \pm 12,51

Data pada Tabel 5.3 menunjukkan bahwa hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode spektrofotometri serapan atom diperoleh nilai rata-rata antara 1240,97 mg/Kg sampai 1253,28 mg/Kg. Kadar kalsium terendah ditunjukkan pada replikasi 2 ulangan ke 2 dengan nilai 1210,27 mg/Kg, sedangkan kadar kalsium tertinggi ditunjukkan oleh data replikasi 2 ulangan ke 1 dengan nilai 1273,58 mg/Kg.

5.2 Perbandingan Kadar Kalsium dan Analisis Data

Nilai hasil pengukuran kadar kalsium ikan teri dengan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom yang diperoleh pada penelitian ini selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik untuk membandingkan dan mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar kalsium yang bermakna secara statistik. Perbandingan data hasil pengukuran dari ketiga metode dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Penetapan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom

Data Penetapan Kadar	Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) (mg/Kg)		
	Permanganometri	Kompleksometri	Spektrofotometri Serapan Atom
1	1665,17	1158,34	1232,79
2	1665,17	1116,22	1249,27
3	1727,61	1158,34	1240,86
4	1581,82	1280,42	1273,58
5	1539,64	1280,42	1210,27
6	1581,82	1259,08	1272,13
7	1687,00	1280,21	1239,42

Data Penetapan Kadar	Kadar Kalsium Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) (mg/Kg)		
	Permanganometri	Kompleksometri	Spektrofotometri Serapan Atom
8	1750,26	1258,87	1256,68
9	1750,26	1280,21	1263,74
Rerata \pm SD	1660,97 \pm 77,7	1230,23 \pm 66,1	1248,75 \pm 20,4

Berdasarkan data pada Tabel 5.4 diatas dapat diketahui nilai rata-rata penetapan kadar kalsium dengan metode permanganometri lebih tinggi dibandingkan nilai rerata metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sedangkan nilai penetapan kadar spektrofotometri serapan atom lebih tinggi dibandingkan nilai penetapan kadar metode kompleksometri. Nilai tersebut kemudian dianalisis secara statistik.

Uji pertama yang dilakukan adalah menguji distribusi data dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* (KS). Setelah dilakukan uji normalitas data, dilanjutkan dengan uji beda yang apabila data berdistribusi normal digunakan uji *one way anova*, sedangkan apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji *Kruskal wallis*.

5.2.1 Uji Normalitas

Uji distribusi data menggunakan *Kolmogorov Smirnov* (KS) dilakukan pada hasil penetapan kadar kalsium dari masing-masing metode.

1. Hipotesis Uji *Kolmogorov Smirnov*

Hipotesis dalam uji distribusi data menggunakan *Kolmogorov Smirnov* adalah sebagai berikut:

- a. H_0 : Data berdistribusi normal
- b. H_1 : Data tidak berdistribusi normal

2. Pengambilan Keputusan Hasil Uji *Kolmogorov Smirnov*

Berdasarkan hipotesis tersebut, terdapat pedoman dalam pengambilan keputusan hasil uji statistik. Adapun pengambilan keputusan didasarkan pada ketentuan berikut ini :

- a. Jika nilai signifikan ($p < \alpha (0,05)$), maka H_0 ditolak dan H_1 diterima
- b. Jika nilai signifikan ($p > \alpha (0,05)$), maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

3. Hasil Uji *Kolmogorov Smirnov*

Hasil uji *Kolmogorov Smirnov* yang diperoleh pada data hasil pengukuran kadar kalsium ikan teri (*Stolephorus sp.*) dengan metode permanganometri, memiliki nilai probabilitas ($p = 0,907$), hasil pengukuran dengan metode kompleksometri ($p = 0,268$) dan hasil pengukuran metode spektrofotometri serapan atom, ($p = 1,000$) Nilai probabilitas dari ketiga metode lebih tinggi daripada nilai $\alpha (0,05)$, $p > \alpha (0,907 > 0,05)$, $(0,268 > 0,05)$, $(1,000 > 0,05)$. Hal ini menunjukkan data hasil pengukuran kadar kalsium ikan teri (*Stolephorus sp.*) dari ketiga metode berdistribusi normal. Karena data berdistribusi normal, maka untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

5.2.2 Uji *One Way Anova*

Pada uji *One Way Anova* terdapat tiga kelompok data yang akan dianalisis yaitu hasil penetapan kadar kalsium ikan teri dengan menggunakan metode permanganometri, hasil penetapan kadar kalsium dengan metode kompleksometri dan hasil penetapan kadar kalsium dengan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom dengan skala data rasio. Ketiga hasil tersebut dianalisis secara

simultan sehingga dapat diketahui apakah terdapat perbedaan hasil penetapan kadar kalsium dari ketiga metode.

1. Hipotesis Uji *One Way Anova*

Hipotesis dalam uji *One Way Anova* adalah sebagai berikut :

- a. H_0 : Tidak terdapat perbedaan kadar kalsium pada ikan teri (*Stolephorus sp.*) yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.
- b. H_1 : Terdapat perbedaan kadar kalsium pada ikan teri (*Stolephorus sp.*) yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom.

2. Pedoman Pengambilan Keputusan Hasil Uji *One Way Anova*

Berdasarkan hipotesis tersebut, terdapat pedoman dalam pengambilan keputusan hasil uji statistik. Adapun pengambilan keputusan didasarkan pada ketentuan berikut ini:

- a. Jika nilai signifikan (p) $< \alpha$ (0,05), maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.
- b. Jika nilai signifikan (p) $> \alpha$ (0,05) , maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

3. Hasil Uji *One Way Anova*

Hasil uji diperoleh nilai p ($0,000$) $< \alpha$ ($0,05$) dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) yang artinya bahwa terdapat perbedaan bermakna hasil pengukuran kadar kalsium ikan teri (*Stolephorus sp.*) dengan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom. Dalam uji *one way anova*, kesimpulan analisis akan dinyatakan terdapat perbedaan apabila minimal satu pasang kelompok data yang berbeda, sehingga untuk mengetahui pada metode mana yang memiliki perbedaan hasil penetapan kadar kalsium yang

signifikan secara statistik digunakan uji *post hoc* LSD (*Least Significant Deference*).

5.2.3 Uji *Least Significant Different*

Hasil uji *Least Significant Different* data pengukuran kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom diperoleh nilai $p (0,000) < \alpha (0,05)$ pada data kadar kalsium yang ditetapkan dengan metode permanganometri terhadap metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sedangkan hasil penetapan kadar kalsium menggunakan metode kompleksometri dengan spektrofotometri serapan atom diperoleh nilai probabilitas (p) $(0,502) > \alpha (0,05)$.

Nilai $p (0,000) < \alpha (0,05)$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri (*Stolephorus sp.*) menggunakan metode permanganometri dengan kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sedangkan nilai (p) $(0,502) > \alpha (0,05)$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan hasil penetapan kadar kalsium dengan metode kompleksometri dengan spektrofotometri serapan atom.

5.3 Akurasi Metode

Nilai akurasi dari masing-masing metode analisis dalam penelitian ini ditetapkan berdasarkan pedoman dari ICH (*International Conference on Harmonization*) yang merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi) dan dilaporkan sebagai presentase perolehan kembali. Penetapan nilai akurasi menggunakan metode adisi (*standard addition method*) yaitu penambahan standar

kalsium kedalam sampel dan diukur kadarnya sehingga dapat ditentukan nilai % *recovery* (% perolehan kembali).

5.3.1 Metode Permanganometri

Penetapan nilai akurasi dari metode permanganometri dilakukan pada tiga tingkatan konsentrasi adisi standar kalsium yaitu konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Nilai akurasi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Penetapan Nilai Akurasi Metode Permanganometri

Konsentrasi Adisi	Nilai Akurasi (% <i>recovery</i>)			Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
50 ppm	112,2	117,3	91,8	107,1
100 ppm	117,3	109,7	119,9	115,6
200 ppm	95,6	112,2	114,8	107,5

Berdasarkan Tabel 5.5 di atas dapat diketahui bahwa dari sembilan data penetapan akurasi diperoleh nilai perolehan kembali (*recovery*) rata-rata antara 107,1 sampai 115,6%. Nilai rata-rata akurasi tersebut berada pada rentang syarat akurasi yang baik yaitu 80% - 120% (Harmita, 2004).

5.3.2 Metode Kompleksometri

Penetapan nilai akurasi dari metode kompleksometri juga dilakukan pada tiga tingkatan konsentrasi penambahan standar kalsium yaitu konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm diperoleh nilai akurasi yang dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Penetapan Nilai Akurasi Metode Kompleksometri

Konsentrasi Adisi	Nilai Akurasi (% <i>recovery</i>)			Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
100 ppm	92,9	108,4	113,5	104,9
250 ppm	110,9	95,5	92,9	99,8

Konsentrasi Adisi	Nilai Akurasi (% <i>recovery</i>)			Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
500 ppm	94,2	113,5	110,9	106,2

Berdasarkan Tabel 5.6 di atas dapat diketahui bahwa dari sembilan data penetapan akurasi diperoleh nilai perolehan kembali (*recovery*) rata-rata antara 99,8 sampai 106,2%. Nilai tersebut berada pada rentang syarat akurasi yang baik yaitu 80% - 120% (Harmita, 2004).

5.3.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Penetapan nilai akurasi dari metode spektrofotometri serapan atom pada tiga tingkatan konsentrasi penambahan standar kalsium yaitu konsentrasi 2 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Nilai akurasi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Penetapan Nilai Akurasi Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Konsentrasi Adisi	Nilai Akurasi (% <i>recovery</i>)			Rerata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
2 ppm	96,57	98,87	97,30	97,58
5 ppm	106,79	104,19	96,87	102,62
10 ppm	102,71	96,64	97,81	99,05

Berdasarkan Tabel 5.7 di atas dapat diketahui bahwa dari sembilan data penetapan nilai akurasi diperoleh nilai perolehan kembali (*recovery*) rata-rata antara 97,58 sampai 102,62%. Hasil penetapan nilai akurasi metode spektrofotometri serapan atom juga dikonfirmasi dengan melakukan pengukuran pada *Certified Reference Material (CRM)* dengan nilai *true value* 12,3 mg/L, nilai ketidakpastian 2,6% dan nilai QC 11,0 – 13,6 mg/L. Hasil pengukuran CRM didapatkan kadar terukur 11,73 mg/L, sehingga berdasarkan nilai tersebut

diperoleh nilai akurasi 95,36%. Nilai hasil penetapan akurasi metode AAS berada pada rentang syarat akurasi yang baik yaitu 80% - 120% (Harmita, 2004).

5.3.4 Perbandingan Akurasi Metode

Hasil penetapan nilai perolehan kembali (*recovery*) dari masing-masing metode diketahui metode permanganometri memiliki nilai akurasi dengan rentang 107,1 - 115,6%, metode kompleksometri 99,8 - 106,2%, spektrofotometri serapan atom adalah 97,58 - 102,62%. Nilai akurasi dari metode permanganometri memiliki nilai rentang yang melebihi 100 %, namun nilai dari ketiga metode tersebut berada pada rentang syarat akurasi yang baik apabila dibandingkan dengan nilai akurasi dalam Harmita, (2004) yaitu 80% - 120%, sedangkan apabila dibandingkan dengan standar yang ditetapkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu 90-108%, nilai akurasi metode permanganometri melebihi standar akurasi yang dipersyaratkan.

5.4 Presisi Metode

Penetapan nilai presisi dari masing-masing metode didasarkan pada pedoman yang ditentukan oleh ICH (*International Conference on Harmonization*) yaitu menggunakan 6 data penentuan pada konsentrasi 100%. Pengumpulan data presisi dalam penelitian ini yaitu nilai simpangan baku (SD), dan simpangan baku relative (RSD) atau koefisien variasi (CV).

5.4.1 Metode Permanganometri

Hasil pengukuran kadar kalsium pada ikan teri dengan 6 kali ulangan untuk memperoleh nilai presisi dari metode permanganometri dapat dilihat pada Tabel 5.8.

Tabel 5.8 Hasil Penetapan Nilai Presisi dari Metode Permanganometri

Ulangan	Kadar Sampel (mg/Kg)
1	1665.17
2	1665.17
3	1727.61
4	1665.17
5	1727.61
6	1665.17
Rata-rata	1685.98
Standar Deviasi	32.25
CV	1.91

Tabel 5.8 di atas menunjukkan hasil penetapan kadar kalsium dengan metode permanganometri diperoleh nilai rerata 1685,98 dengan standar deviasi 32,25. Berdasarkan nilai tersebut diperoleh nilai koefisien variasi (CV) 1,91%. Nilai CV metode ini apabila dibandingkan dengan nilai yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), berada pada rentang yang baik yaitu maksimal 2%, sehingga metode ini memiliki presisi yang baik.

5.4.2 Metode Kompleksometri

Hasil pengukuran kadar kalsium pada ikan teri dengan 6 kali ulangan untuk memperoleh nilai presisi dari metode kompleksometri dapat dilihat pada Tabel 5.9.

Tabel 5.9 Hasil Penetapan Nilai Presisi dari Metode Kompleksometri

Ulangan	Kadar Sampel (mg/Kg)
1	1158.34
2	1116.22
3	1158.34
4	1116.22

Ulangan	Kadar Sampel (mg/Kg)
5	1116.22
6	1116.22
Rata-rata	1130.26
Standar Deviasi	21.75
CV	1.92

Berdasarkan Tabel 5.9 di atas dapat diketahui bahwa hasil penetapan kadar kalsium dengan metode kompleksometri diperoleh nilai rata – rata 1130,26 dengan standar deviasi 21,75, berdasarkan nilai tersebut diperoleh nilai koefisien variasi (CV) 1,92%. Nilai CV metode ini berada pada rentang yang baik sesuai standar yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu maksimal 2%, yang menunjukkan metode ini memiliki presisi yang baik.

5.4.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Hasil pengukuran kadar kalsium pada ikan teri dengan 6 kali ulangan untuk memperoleh nilai presisi dari metode kompleksometri dapat dilihat pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10 Hasil Penetapan Nilai Presisi dari Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Ulangan	Kadar Sampel (mg/Kg)
1	1199,61
2	1208,46
3	1240,86
4	1232,79
5	1209,01
6	1249,27
Rata-rata	1223,33

Ulangan	Kadar Sampel (mg/Kg)
Standar Deviasi	20,29
CV	1,66

Berdasarkan Tabel 5.10 di atas dapat diketahui bahwa hasil penetapan kadar kalsium dengan metode spektrofotometri serapan atom diperoleh nilai rerata 1223,33 mg/Kg dengan standar deviasi 20,29, sehingga diperoleh nilai koefisien variasi (CV) 1,66%. Nilai CV metode ini berada pada rentang yang baik sesuai standar yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu tidak lebih dari 2%, yang menunjukkan metode ini memiliki presisi yang baik.

5.4.4 Perbandingan Presisi Metode

Hasil penetapan nilai koefisien variasi (CV) yang menunjukkan presisi dari masing-masing metode diketahui metode permanganometri memiliki nilai CV 1,91%, metode kompleksometri 1,92%, spektrofotometri serapan atom adalah 1,66%. Metode spektrofotometri serapan atom memiliki nilai CV yang lebih rendah dari pada metode kompleksometri dan permanganometri, namun ketiga metode memiliki nilai CV yang sesuai dengan dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu maksimal 2%.

5.5 Linieritas Metode

Linieritas dari masing-masing metode ditetapkan dengan melakukan pengukuran pada variasi konsentrasi standar kalsium yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diplotkan ke grafik linieritas sehingga dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya.

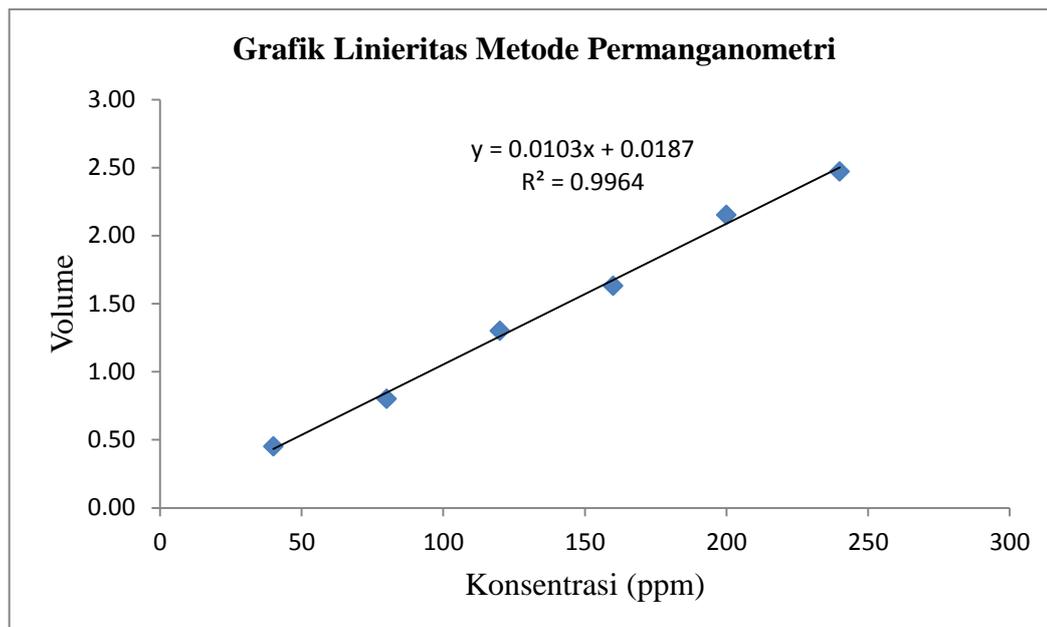
5.5.1 Metode Permanganometri

Uji linieritas pada metode permanganometri ditentukan berdasarkan nilai R^2 dari plot data volume KMnO_4 yang digunakan untuk mentitrasi variasi konsentrasi standar kalsium 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, 240 ppm ke dalam grafik regresi linier. Hasil titrasi larutan standar kalsium dapat dilihat pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Standar Kalsium dengan Metode Permanganometri

Konsentrasi (ppm)	Volume rata-rata KMnO_4 (mL)
40	0.45
80	0.80
120	1.30
160	1.63
200	2.15
240	2.47

Pada Tabel 5.11 tersebut dapat diperhatikan bahwa, meningkatnya konsentrasi standar kalsium berbanding lurus dengan meningkatnya volume titran KMnO_4 yang diperlukan untuk mentitrasi variasi konsentrasi larutan standar. Hasil pengukuran tersebut kemudian diplot ke dalam grafik regresi linier untuk mengetahui persamaan regresi dan nilai R^2 , nilai intersep dan *slope*. Linieritas diukur dengan nilai R^2 dari kurva hubungan antara volume larutan KMnO_4 0,1N (sebagai sumbu y) dengan konsentrasi larutan standar kalsium (ppm) (sebagai sumbu x), yang dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Grafik Linieritas Metode Permanganometri

Grafik pada Gambar 5.1 diatas menunjukkan persamaan regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 0.0103x + 0.0187$ dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9964, nilai $slope = 0.0103$ dan intersep = 0.0187. Nilai *coefficient of determination* (R^2) memenuhi nilai yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu lebih besar dari 0,99, sehingga metode permanganometri memiliki linieritas yang baik dalam penetapan kadar kalsium.

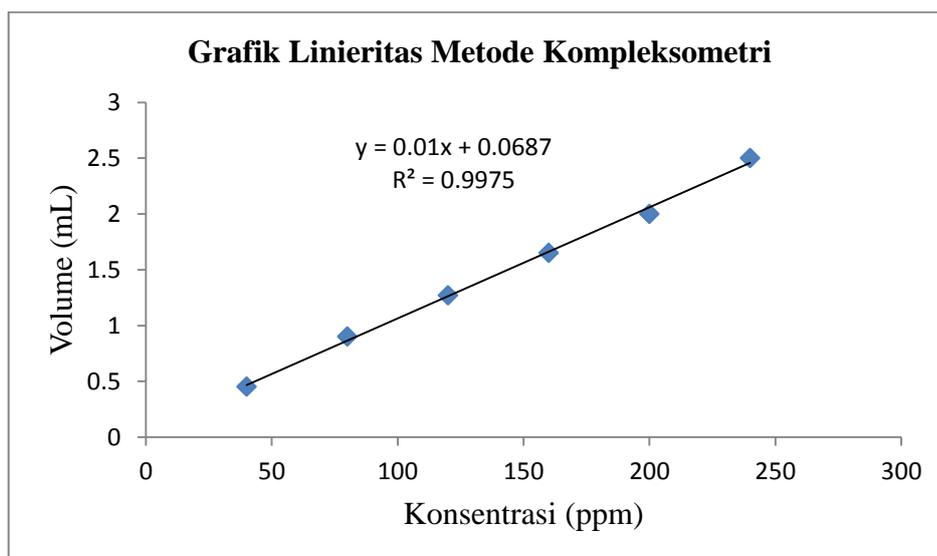
5.5.2 Metode Kompleksometri

Pada metode kompleksometri nilai linieritas metode juga ditentukan dengan melakukan pengukuran standar kalsium menggunakan variasi konsentrasi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, 240 ppm. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5.12.

Tabel 5.12 Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Standar Kalsium dengan Metode Kompleksometri

Konsentrasi (ppm)	Volume rata-rata Na ₂ EDTA (mL)
40	0.45
80	0.9
120	1.27
160	1.65
200	2
240	2.50

Pada Tabel 5.12 tersebut dapat diperhatikan bahwa, volume titran Na₂EDTA yang diperlukan untuk mentitrasi larutan standar kalsium berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi standar kalsium. Hasil pengukuran tersebut kemudian diplot ke dalam grafik regresi linier untuk mengetahui persamaan regresi dan nilai R², nilai intersep dan *slope*. Linieritas diukur dengan nilai R² dari kurva hubungan antara volume larutan Na₂EDTA 0,05 M (sebagai sumbu y) dengan konsentrasi larutan standar kalsium (ppm) (sebagai sumbu x), yang dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Grafik Linieritas Metode Kompleksometri

Grafik pada Gambar 5.2 diatas menunjukkan persamaan regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 0,01x + 0,0687$ dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9975, intersep 0,0687 dan *slope* 0,01. Nilai *coefficient of determination* (R^2) yang diperoleh dari hasil pengukuran tersebut memenuhi nilai yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu lebih besar dari 0,99, sehingga metode kompleksometri memiliki linieritas yang baik dalam penetapan kadar kalsium.

5.5.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom

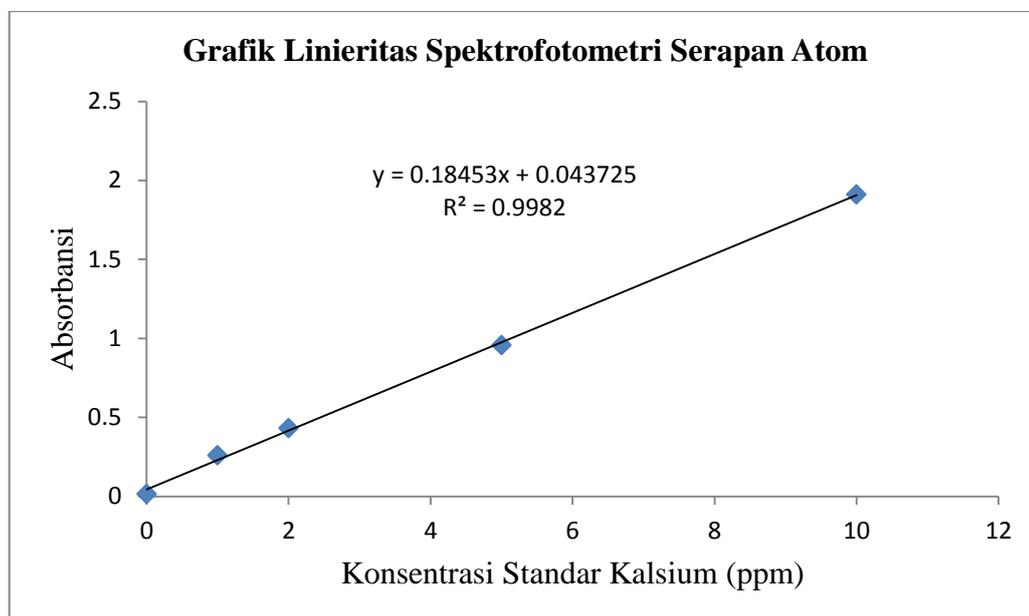
Pada metode spektrofotometri serapan atom nilai linieritas metode ditentukan dengan melakukan pengukuran absorbansi dari standar kalsium kurva kalibrasi pada konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, 10 ppm. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5.13.

Tabel 5.13 Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Standar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0,0135
1	0,2596
2	0,4303
5	0,9564
10	1,9104

Berdasarkan Tabel 5.13 diatas dapat diperhatikan bahwa, nilai absorbansi hasil pengukuran berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi standar kalsium. Hasil pengukuran tersebut kemudian diplot ke dalam grafik regresi linier untuk mengetahui persamaan regresi dan nilai R^2 . Linieritas diukur dengan nilai R^2 dari kurva hubungan antara absorbansi (sebagai sumbu y) dengan konsentrasi

larutan standar kalsium (ppm) (sebagai sumbu x), yang dapat dilihat pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Grafik Linieritas Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Grafik pada Gambar 5.3 diatas menunjukkan persamaan regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 0.18453x + 0.043725$ dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9982. Nilai *coefficient of determination* (R^2) memenuhi nilai yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu lebih besar dari 0,99.

5.5.4 Perbandingan Linieritas Metode

Hasil penentuan nilai linieritas dari masing-masing metode analisis yang ditunjukkan oleh nilai *coefficient of determination* (R^2) diketahui metode permanganometri memiliki nilai koefisien korelasi (r) 0,9964. Nilai tersebut lebih rendah dari metode kompleksometri dengan koefisien korelasi (r) 0,9975, dan metode spektrofotometri serapan atom dengan koefisien korelasi (r) 0,9982. Berdasarkan hasil penetapan nilai linieritas tersebut dapat diketahui metode

spektrofotometri serapan atom memiliki nilai linieritas yang lebih tinggi dibandingkan metode permanganometri dan kompleksometri, namun ketiga metode memiliki nilai linieritas sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu lebih besar dari 0,99.

5.6 Limit Of Detection dan Limit Of Quantification Metode

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) diperoleh dari perhitungan persamaan regresi linier secara statistik. Dalam menentukan nilai LOD dan LOQ dari suatu metode, nilai persamaan regresi linier yang diperoleh dari plot antara variasi konsentrasi standar dengan volume titran (y) pada metode kompleksometri dan permanganometri atau antara variasi konsentrasi dengan absorbansi (y) pada metode spektrofotometri serapan atom, digunakan untuk menentukan volume titran atau absorbansi sebenarnya yang dinyatakan sebagai nilai (y_i).

Berdasarkan nilai (y_i), selanjutnya akan diperoleh nilai $\sum (y-y_i)^2$ yang digunakan untuk menentukan nilai SD ($S_{(y/x)}$). Nilai SD dan *slope* dari persamaan regresi linier selanjutnya digunakan untuk menentukan batas deteksi dan batas kuantitasi dari metode analisis. Hasil penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) metode permanganometri, kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom adalah sebagai berikut.

5.6.1 Metode Permanganometri

Pada metode permanganometri, hasil uji linieritas diperoleh persamaan garis $y = 0.0103x + 0.0187$, sehingga diketahui nilai *slope* = 0.0103. Berdasarkan persamaan garis tersebut, nilai konsentrasi standar kalsium disubstitusikan ke nilai x dari persamaan garis sehingga diperoleh nilai (y_i). Hasil perhitungan yang

dilakukan diperoleh nilai $\sum (y-y_i)^2 = 1,11 \times 10^{-2}$, sehingga didapatkan nilai $S_{(y/x)} = 5,269 \times 10^{-2}$. Nilai batas deteksi ditentukan dari persamaan $(3S(y/x))/slope$, Nilai faktor 3 merupakan rekomendasi IUPAC sesuai tingkat kepercayaan 90% (Thomsen dkk., 2003) dan diperoleh nilai 15,34 ppm, sedangkan nilai batas kuantitasi ditentukan dari persamaan $(10S(y/x))/slope$ sehingga diperoleh nilai 51,16 ppm. Nilai LOD dan LOQ tersebut menunjukkan bahwa metode permanganometri dapat mendeteksi kadar terendah 15,34 ppm, namun batas kadar yang dapat dikuantifikasi secara akurasi dan presisi adalah 51,16 ppm.

5.6.2 Metode Kompleksometri

Pada metode kompleksometri, hasil uji linieritas diperoleh persamaan garis $y = 0,01x + 0,0687$, sehingga diketahui nilai $slope = 0,01$. Berdasarkan persamaan garis tersebut, nilai konsentrasi standar kalsium 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, 200 ppm, dan 240 ppm, disubstitusikan ke nilai x dari persamaan garis sehingga diperoleh nilai (y_i). Hasil perhitungan yang dilakukan diperoleh nilai $\sum (y-y_i)^2 = 7,38 \times 10^{-3}$, sehingga didapatkan nilai $S_{(y/x)} = 4,295 \times 10^{-2}$. Nilai batas deteksi ditentukan dari persamaan $(3S(y/x))/slope$ dan diperoleh nilai LOD 12,88 ppm, sedangkan nilai batas kuantitasi ditentukan dari persamaan $(10S(y/x))/slope$ sehingga diperoleh nilai 42,95 ppm. Nilai LOD dan LOQ tersebut menunjukkan bahwa metode kompleksometri dapat mendeteksi kadar terendah 12,88 ppm, namun batas kadar yang dapat dikuantifikasi secara akurasi dan presisi adalah 42,95 ppm.

5.6.3 Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Pada metode spektrofotometri serapan atom, hasil uji linieritas diperoleh persamaan garis $y = 0.18453x + 0.043725$, sehingga diketahui nilai $slope =$

0.18453. Berdasarkan persamaan garis tersebut, nilai konsentrasi standar kalsium 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm dan 10 ppm disubstitusikan ke nilai x dari persamaan garis sehingga diperoleh nilai (y_i). Hasil perhitungan yang dilakukan diperoleh nilai $\sum (y-y_i)^2 = 2,75 \times 10^{-3}$, sehingga didapatkan nilai $S_{(y/x)} = 3,0327 \times 10^{-2}$. Nilai batas deteksi ditentukan dari persamaan $(3S(y/x))/\text{slope}$ dan diperoleh nilai 0,493 ppm, sedangkan nilai batas kuantitasi ditentukan dari persamaan $(10S(y/x))/\text{slope}$ sehingga diperoleh nilai 1,643 ppm. Nilai LOD dan LOQ tersebut menunjukkan bahwa metode spektrofotometri serapan atom dapat mendeteksi kadar terendah 0,493 ppm, namun batas kadar yang dapat dikuantifikasi secara akurasi dan presisi adalah 1,643 ppm.

5.6.4 Perbandingan *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantification* Metode Permanganometri, Kompleksometri, dan Spektrofotometri Serapan Atom

Berdasarkan hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantisasi dapat diketahui bahwa metode spektrofotometri dapat mendeteksi dan mengkuantifikasi kalsium dalam kadar yang lebih rendah dari metode permanganometri dan kompleksometri yang ditunjukkan oleh nilai *limit of detection* dan *limit of quantification*, berturut – turut 0,493 ppm dan 1,643 ppm. Hasil perhitungan pada metode kompleksometri juga diketahui dapat mendeteksi dan mengkuantifikasi kadar kalsium lebih rendah dari metode permanganometri dengan nilai LOD dan LOQ berturut - turut 12,88 ppm dan 42,95 ppm, sedangkan metode permanganometri memiliki nilai LOD 15,34 ppm dan LOQ 51,16 ppm.

BAB 6 **PEMBAHASAN**

6.1 Analisa Kadar Kalsium Pada Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)

Kalsium merupakan unsur mineral dan dikenal sebagai bahan anorganik atau kadar abu (Rahmadani, 2011). Untuk dapat dilakukan penetapan kadar kalsium, ikan teri yang digunakan sebagai sampel didestruksi untuk memperoleh sampel berupa cairan jernih sehingga bisa ditetapkan kadar kalsium dengan tiga metode yang berbeda. Pada proses destruksi digunakan larutan HNO₃ 65% dan H₂O₂ 30%. Penambahan dari HNO₃ berfungsi sebagai destruktur dan melarutkan logam-logam yang ada di dalam sampel tersebut, sedangkan H₂O₂ sebagai pengoksidasi untuk mempercepat proses oksidasi dan menguraikan senyawa organik (Bakhtra, 2015; Susanti, 2016).

Zat pengoksidasi HNO₃ dan H₂O₂ mengoksidasi mineral menjadi bentuk garamnya. Penggunaan asam campuran lebih baik daripada asam tunggal untuk proses destruksi mineral, karena penggunaan asam tunggal seperti asam nitrat saja dapat menyebabkan destruksi yang tidak sempurna pada larutan keruh (Yang, dkk., 2012; Idera, dkk., 2015). Setelah ditambahkan HNO₃ dan H₂O₂ larutan dimasukkan ke dalam vessel dan dimasukkan ke dalam *High Performance Microwave Digestion System* dan didestruksi selama 45 menit pada suhu 180°C sampai didapatkan larutan dalam keadaan jernih dan terlarut.

Peningkatan suhu hingga 180°C dalam pH rendah meningkatkan kecepatan dekomposisi sampel dengan mengubah sampel dari padatan ke larutan (Yuyun, dkk., 2017). Dari proses destruksi ini diharapkan yang tertinggal adalah residu bahan anorganik berupa mineral khususnya kalsium untuk ditentukan

kadarnya, karena prinsip kerja destruksi adalah memusnahkan bahan organik dan dioksidasi dengan bantuan asam pengoksidasi kuat yang dididihkan bersama-sama (Rahmadani, 2011; Bakhtra, 2015).

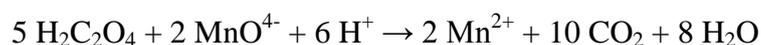
Teknik destruksi berupa pengabuan basah ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu mineral tetap dalam larutan dan ada sedikit atau tidak ada kerugian penguapan karena suhunya rendah, dan waktu oksidasinya singkat. Pada umumnya destruksi basah dapat digunakan untuk menentukan unsur-unsur dengan konsentrasi yang sangat rendah, agar unsur-unsur tidak saling mengganggu dalam analisis, maka unsur yang tidak ingin diamati harus dihilangkan dengan proses destruksi tersebut diharapkan yang tertinggal hanya bahan anorganik saja (Nielsen, 2010; Bakhtra, dkk, 2017). Metode destruksi basah membutuhkan lebih banyak perhatian dari operator, memerlukan reagen korosif dan hanya sedikit sampel yang dapat ditangani pada satu waktu (Nielsen, 2010).

6.1.1 Analisa Kadar Kalsium dengan Metode Permanganometri

Analisa kadar kalsium pada metode permanganometri menggunakan titran kalium permanganat. Kalium permanganat memiliki beberapa kelebihan diantaranya merupakan oksidator kuat, mudah diperoleh dan tidak memerlukan indikator, namun agar dapat digunakan untuk menetapkan kadar, larutan kalium permanganat harus distandarisasi terlebih dahulu karena kalium permanganat bukan pereaksi baku primer, sangat sukar didapatkan dalam keadaan murni dan bebas dari mangan dioksida (Rahmadani, 2011). Standarisasi dilakukan untuk dapat diketahui konsentrasi dari kalium permanganat. Larutan baku primer yang digunakan untuk standarisasi adalah $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$.

Larutan asam oksalat ditambahkan dengan asam sulfat yang berfungsi untuk memberikan suasana asam, karena titik akhir titrasi lebih mudah diamati bila reaksi dilakukan dalam suasana asam dan reaksi H_2SO_4 tersebut tidak menghasilkan produk ataupun tidak bereaksi dengan titran. Reaksi titrasi dengan kalium permanganat harus dilakukan pada suasana asam, karena dalam suasana asam zat ini akan mengalami reduksi menghasilkan ion Mn^{2+} yang tidak berwarna sedangkan apabila reaksi dilakukan dalam suasana asam lemah, pH netral atau sedikit basa maka akan terbentuk padatan MnO_2 yang berwarna coklat yang dapat mengganggu dalam penentuan titik akhir titrasi (Rahmadani, 2011; Putra dan Sugiarto, 2016).

Sebelum dilakukan standarisasi larutan asam oksalat dipanaskan pada suhu $70\text{-}80^\circ\text{C}$ untuk mempercepat reaksi antara KMnO_4 dengan asam oksalat karena pada suhu kamar reaksi antara keduanya cenderung lambat sehingga akan sulit untuk menentukan titik akhir reaksi (Rahmadani, 2011). Standarisasi KMnO_4 menggunakan asam oksalat ini tidak menggunakan indikator eksternal untuk menentukan titik akhir reaksinya. Hal ini disebabkan KMnO_4 sendiri selain bertindak sebagai titran, ia juga bertindak sebagai indikator (*auto indicator*). Titik akhir titrasi ditunjukkan dengan perubahan warna dari bening menjadi merah muda (Putra dan Sugiarto, 2016). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Penentuan kadar kalsium dalam sampel dilakukan dengan menambahkan ammonium oksalat berlebih pada larutan hasil destruksi sehingga diharapkan dapat mengendapkan kalsium keseluruhan dalam sampel menjadi kalsium oksalat. Larutan ditambahkan sedikit ammonia encer untuk menetralkan dan menggeser

reaksi ke arah pembentukan produk sehingga peluang terbentuknya endapan kalsium oksalat lebih besar, kemudian larutan ditambahkan beberapa tetes asam asetat 10% (Rahmadani, 2011; Yenrina, 2015).

Larutan dipanaskan untuk menghilangkan ion-ion pengganggu kemudian didiamkan 24 jam yang bertujuan untuk memaksimalkan pengendapan kalsium dalam sampel. Larutan disaring menggunakan kertas whatman dan dibilas beberapa kali dengan akuades panas sehingga filtrat bebas klorida dan ion oksalat. Untuk memastikan filtrat bebas dari kalsium oksalat dan ion oksalat, diuji filtrat dengan ammonium oksalat dan larutan standar kalsium. Apabila penambahan ammonium oksalat tidak menyebabkan terbentuknya endapan, maka filtrat bebas dari endapan kalsium oksalat, dan apabila penambahan larutan kalsium tidak menyebabkan filtrat menjadi keruh maka filtrat bebas ion oksalat (Rahmadani, 2011; Yenrina, 2015).

Filtrat juga harus terbebas dari ion klorida, dalam penelitian ini cara memastikan endapan bebas klorida adalah dengan menguji air bilasan terakhir menggunakan larutan AgNO_3 . Apabila terdapat ion Cl^- pada air bilasan, ion tersebut akan bereaksi dengan AgNO_3 dan membentuk endapan AgCl yang berwarna putih, sehingga apabila air bilasan terakhir masih berwarna keruh seperti air kapur, maka perlu dilakukan pembilasan ulang hingga air bilasan yang diuji dengan AgNO_3 berwarna jernih (Yenrina, 2015).

Pengujian tersebut bertujuan agar dalam penentuan kadar kalsium, reaksi yang terjadi benar-benar hanya antara kalium permanganat dengan kalsium dalam sampel dan tidak membentuk reaksi samping yang dapat mempengaruhi pembacaan titik akhir titrasi. Endapan dibilas dan dilarutkan dengan asam sulfat

panas encer. Penambahan asam sulfat bertujuan untuk membentuk suasana asam, karena seperti yang dijelaskan sebelumnya titrasi yang menggunakan kalium permanganat sebagai titran harus dalam suasana asam, untuk menghindari terbentuknya endapan coklat MnO_2 karena suasana asam lemah, netral dan basa (Rahmadani, 2011).

Asam sulfat yang ditambahkan akan bereaksi dengan endapan ammonium oksalat membentuk asam oksalat yang ekuivalen dengan kadar kalsium dalam sampel. Larutan dititrasi dengan larutan baku KMnO_4 0,1 N. Pada penambahan titran, warna merah hilang makin cepat karena ion Mn^{2+} yang terjadi berfungsi sebagai katalis untuk mempercepat reaksi. Selanjutnya titran ditambahkan lebih cepat sampai titik akhir titrasi tercapai, yaitu sampai pada tetesan warna merah jambu pucat yang tidak hilang selama 15 detik (Yenrina, 2015).

Warna pada titik akhir ini tidak tetap bertahan, karena setelah beberapa lama akan hilang kembali akibat reaksi antara kelebihan MnO_4^- dengan ion Mn^{2+} hasil titrasi. Reaksinya adalah : $2\text{H}_2\text{O} + 2 \text{MnO}_4^- + 3 \text{Mn}^{2+} \rightarrow 5 \text{MnO}_2 + 4 \text{H}^+$. Kadar kalsium dihitung berdasarkan banyaknya volume larutan baku KMnO_4 yang digunakan untuk titrasi (Rahmadani, 2011). Hasil penetapan kadar kalsium dengan titrasi permanganometri diperoleh kadar kalsium rata-rata dalam ikan teri adalah 1660,97 mg/Kg. Nilai kadar tersebut diperoleh berdasarkan penetapan kadar kalsium menggunakan 3 kali replikasi dan 3 kali ulangan. Data tersebut selanjutnya akan digunakan untuk menganalisis apakah terdapat perbedaan hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri.

Dalam penetapan kadar kalsium dengan titrasi permanganometri, untuk dapat memperoleh kadar kalsium maksimal dan sesuai dengan kadar sebenarnya

dalam sampel, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan. Faktor pertama yaitu suhu titrasi, suhu titrasi dalam permanganometri harus dilakukan dalam keadaan panas ($70-80^{\circ}\text{C}$) hal ini dikarenakan reaksi antara KMnO_4 dengan asam oksalat pada suhu kamar cenderung lambat, sehingga dapat mengganggu pembacaan kadar akhir (Rahmadani, 2011). Faktor selanjutnya yaitu penambahan titran, penambahan ammonium oksalat, pelarutan endapan dan lamanya waktu pengendapan.

Penambahan titran dilakukan tidak terlalu cepat dan tidak terlalu lambat. Penambahan yang terlalu cepat cenderung menyebabkan reaksi antara MnO_4^- dengan Mn^{+2} , sedangkan bila terlalu lambat terdapat kemungkinan terjadi kehilangan oksalat karena membentuk peroksida yang kemudian terurai menjadi air sehingga kadar yang terbaca lebih kecil (Rahmadani, 2011). Penambahan ammonium oksalat dilakukan secara hati-hati tetes demi tetes dan proses pengendapan dibiarkan terjadi selama 24 jam untuk memaksimalkan proses terbentuknya endapan kalsium oksalat, karena kesempurnaan pembentukan endapan kalsium oksalat sangat mempengaruhi jumlah kadar akhir yang terbaca (Santoso, 1997; Yenrina, 2015).

Pembentukan endapan yang tidak sempurna akan menyebabkan hasil titrasi menjadi lebih kecil dari yang sebenarnya. Hal lainnya yaitu proses pelarutan endapan, apabila pembentuk endapan sempurna tetapi pada proses pelarutan kembali dengan asam kurang sempurna maka hasil titrasi pun menjadi kecil karena pembentukan asam oksalat yang seharusnya ekuivalen dengan kadar kalsium juga relative kecil. Hal-hal tersebut mengakibatkan hasil analisis menjadi lebih rendah dari yang seharusnya (Santoso, 1997).

Hal-hal teknis lainnya yang perlu diperhatikan dalam analisis menggunakan titrimetri diantaranya, alat pengukur volume seperti buret, pipet volume, dan labu ukur yang telah dikalibrasi untuk menjamin volume yang terukur sesuai dengan volume yang sebenarnya, senyawa yang digunakan sebagai larutan baku atau untuk pembakuan harus senyawa dengan kemurnian yang tinggi (Gandjar dan Rohman, 2012).

6.1.2 Analisa Kadar Kalsium dengan Metode Kompleksometri

Pada metode kompleksometri, sebelum dilakukan penetapan kadar, terlebih dahulu dilakukan pembakuan dari larutan Na_2EDTA dengan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05 M yang bertujuan untuk menentukan standar molaritas dari natrium etilen diamin tetra asetat, karena Na_2EDTA adalah larutan baku sekunder sehingga harus dibakukan dengan larutan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang merupakan larutan baku standar primer.

Dalam metode kompleksometri kalsium akan membentuk kompleks 1:1 dengan Na_2EDTA pada suasana basa. Setelah Na_2EDTA habis bereaksi dengan kalsium dalam sampel pada titik ekuivalen, maka kelebihan sedikit Na_2EDTA akan menyebabkan kompleks logam dengan indikator pecah dan menghasilkan perubahan warna dari merah keunguan menjadi biru sebagai penanda titik akhir titrasi (Gandjar dan Rohman, 2012; Taufik, dkk., 2013).

Tahap awal penetapan kadar kalsium dengan metode kompleksometri adalah penambahan larutan buffer ammonia-amonium klorida pH 10 kedalam larutan sampel. Penambahan buffer pH 10 ini berfungsi untuk menstabilkan kompleks yang terjadi antara ligan EDTA dengan kation Ca^{2+} yang ada dalam sampel (Setyaningtyas dkk, 2008). Nilai pH larutan harus dikontrol, dikarenakan

pH dapat mempengaruhi selektivitas pembentukan kompleks antara EDTA dengan logam target (Nielsen, 2010).

Gandjar dan Rhoman, (2016) merekomendasikan penetapan kadar kalsium dengan metode kompleksometri dilakukan pada pH 10 karena kompleks yang terbentuk tidak stabil pada pH rendah. Selain itu pH yang terlalu tinggi dapat menyebabkan penurunan jumlah kalsium dari larutan karena terjadi pengendapan membentuk Ca(OH)_2 (Setyaningtyas dkk, 2008). Menurut Miefthawati dkk, (2013) rentang pH untuk pembentukkan kompleks antara kalsium dengan EDTA berada pada pH 10 – 11.

Penelitian yang dilakukan oleh Abdalgader, dkk., (2016) juga menggunakan rentang pH tersebut untuk penetapan kadar kalsium. Nilai pH yang digunakan dalam penelitiannya adalah 10,5. Setelah penambahan larutan buffer, larutan sampel kemudian ditambahkan indikator *Eriochrome Black T* (EBT) 1% (b/b) sebanyak 50 mg dilakukan pada saat titrasi dimulai. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna dari merah muda menjadi ungu (Taufik dkk., 2018). Hasil penetapan kadar kalsium dengan titrasi kompleksometri diperoleh kadar kalsium rata-rata tiga kali replikasi dan tiga kali ulangan dalam ikan teri adalah 1230,23 mg/Kg.

Hal yang harus diperhatikan dalam analisa kalsium dengan metode kompleksometri selain nilai pH adalah larutan yang digunakan untuk memperoleh nilai pH 10. Berdasarkan hasil optimasi dalam penelitian ini disarankan untuk menggunakan larutan buffer ammonia-amonium klorida karena perubahan warna pada titik akhir titrasi yang terbentuk lebih stabil menggunakan larutan buffer.

6.1.3 Analisa Kadar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Penetapan kadar kalsium dengan spektrofotometri serapan atom (SSA), larutan sampel dilewatkan pada nyala sehingga terbentuk uap atom yang akan dianalisis dan akan menyerap radiasi sinar, sinar akan melalui monokromator untuk memilih panjang gelombang yang sesuai dengan logam yang akan dianalisis, kemudian masuk ke dalam detektor dan absorbansi, lalu sampel akan terbaca di dalam sistem pembacaan alat (Gandjar & Rohman, 2012).

Pada metode ini tahap awal yang dilakukan adalah penetapan nilai persamaan regresi linier kurva kalibrasi standar kalsium dengan variasi konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm pada panjang gelombang 422,7 nm. Rentang konsentrasi pembuatan kurva kalibrasi logam disesuaikan, sehingga konsentrasi logam dalam sampel yang diteliti berada dalam rentang tersebut. Hasil pengukuran absorbansi dari variasi konsentrasi standar kalsium tersebut diplot ke dalam grafik regresi linier sehingga diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0.18453x + 0.043725$.

Persamaan tersebut memiliki koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 yakni 0,9982 yang menunjukkan adanya korelasi antara x (konsentrasi) dan y (absorbansi). Hal ini menunjukkan bahwa persamaan tersebut dapat digunakan untuk menentukan nilai atau kadar sampel (Emawati, dkk., 2017). Nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 dari kurva kalibrasi menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang sesuai dengan hukum *Lambert – Beer* yaitu $A = abc$, yaitu nilai absorbansi (A) berbanding lurus dengan nilai konsentrasi (c) (Day dan Underwood, 2002).

Untuk memastikan alat bekerja dengan baik sehingga hasil pengukuran kalsium dalam sampel valid, pada metode spektrofotometri serapan atom dilakukan pengukuran *Certified Reference Material (CRM)*. CRM mempunyai nilai tertelusur ke SI dan dapat dijadikan sebagai nilai acuan (*reference value*) untuk nilai yang sebenarnya. Syarat CRM yang digunakan matriksnya cocok dengan contoh uji (mempunyai komposisi matriks yang mirip matriks contoh uji) (Riyanto, 2014). CRM yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai *true value* 12,3 mg/L, nilai ketidakpastian 2,6% dan nilai QC 11,0 – 13,6 mg/L.

Hasil pengukuran CRM didapatkan kadar terukur 11,73 mg/L. Nilai tersebut masuk kedalam rentang nilai QC yang dipersyaratkan sehingga hasil pengukuran nantinya dapat teruji validitasnya. Hasil pengukuran absorbansi disubstitusikan ke dalam nilai *y* dari persamaan regresi linier, sehingga dapat diketahui konsentrasi kalsium dalam sampel. Hasil penetapan kadar kalsium dengan metode spektrofotometri serapan atom diperoleh kadar kalsium rata-rata tiga kali replikasi dan tiga kali ulangan dalam ikan teri adalah 1248,75 mg/Kg.

Menurut Khopkar (1990) dalam Manuhutu, (2009) spektrofotometri serapan atom memiliki kelebihan dalam kecepatan analisisnya; dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi semua unsur pada konsentrasi runtu (ketelitiannya sampai tingkat runtu/*trace*); dan sebelum pengukuran tidak perlu memisahkan unsur yang ditentukan karena kemungkinan penentuan satu unsur dengan kehadiran unsur lain dapat dilakukan asalkan lampu katoda berongga yang diperlukan tersedia. Kekurangan spektrofotometri serapan atom adalah kurang sensitif untuk pengukuran sampel bukan logam dan adanya gangguan-gangguan (*interference*) adalah peristiwa-peristiwa yang menyebabkan pembacaan serapan

unsur yang dianalisis menjadi lebih kecil atau lebih besar dari nilai yang sesuai dengan konsentrasinya dalam sampel.

6.2 Analisis perbedaan kadar kalsium dalam ikan teri yang ditetapkan dengan metode permanganometri, kompleksometri, dan spektrofotometri serapan atom.

Hasil penetapan kadar kalsium dengan metode permanganometri memiliki rata-rata lebih tinggi yaitu 1660,97 mg/Kg dibandingkan nilai rata-rata metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom berturut-turut 1230,23 mg/Kg dan 1248,75 mg/Kg, sedangkan nilai penetapan kadar spektrofotometri serapan atom memiliki nilai rata-rata lebih tinggi dibandingkan nilai penetapan kadar metode kompleksometri. Hasil uji statistik *one way anova* dan *least significant different* didapatkan metode permanganometri memiliki hasil penetapan kadar kalsium yang berbeda signifikan terhadap metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sedangkan hasil penetapan kadar kalsium antara metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, tidak berbeda bermakna secara statistik.

Perbedaan hasil pengukuran antara metode permanganometri terhadap kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom dapat disebabkan oleh perbedaan sensitivitas, spesifitas atau selektivitas metode dalam menentukan kadar analit pada sampel (Najwa & Azrina, 2017). Sensitivitas suatu metode dapat ditunjukkan oleh nilai batas deteksi dan batas kuantifikasi, sedangkan selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel (Riyanto, 2014).

Menurut Santoso, (1997) dalam penetapan kadar kalsium, metode permanganometri memiliki prosedur yang panjang sehingga memiliki risiko kesalahan lebih besar dibandingkan spektrofotometri serapan atom. Apabila hasil penetapan kadar kalsium dengan metode permanganometri menjadi lebih tinggi dari kadar sebenarnya dapat disebabkan oleh sifat dari kalium permanganat yang sangat labil dan mudah terkontaminasi sehingga larutannya mudah membentuk MnO_2 . Pembentukan MnO_2 ini akan mengurangi konsentrasi kalium permanganat yang akan menyebabkan hasil titrasi menjadi besar dan berpengaruh terhadap hasil akhir analisis.

Pengendalian terhadap faktor-faktor yang dapat menyebabkan penurunan konsentrasi larutan baku tersebut dapat dilakukan dengan pemanasan dan penyaringan larutan baku untuk menghilangkan zat-zat yang mudah dioksidasi (Gandjar dan Rohman, 2012). Menurut Soraya, (2009) perbedaan hasil penetapan kadar dari ketiga metode juga dapat disebabkan oleh beberapa hal teknis lainnya seperti, kelemahan masing-masing metode uji atau teknik pengukuran, dan kondisi lingkungan.

Kemampuan metode dalam menganalisa kadar kalsium dalam sampel dapat diketahui melalui beberapa parameter validasi. Dalam penelitian ini dilakukan penetapan nilai akurasi, presisi, linieritas, *limit of detection* dan *limit of quantification* dari masing-masing metode. Parameter validasi tersebut merupakan konfirmasi terhadap mutu metode dan melengkapi bukti-bukti yang objektif, apakah metode tersebut memenuhi persyaratan yang sesuai untuk analisis dan mengetahui sejauh mana penyimpangan suatu metode yang tidak dapat dihindari pada kondisi normal dan keadaan seluruh elemen terkait telah dilaksanakan

dengan baik dan benar sehingga didapatkan hasil analisis yang valid, dapat dipercaya, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Soraya, 2009; Riyanto, 2014).

Parameter validasi yang pertama yaitu akurasi metode. Akurasi (ketepatan) adalah tingkatan kedekatan hasil uji yang didapatkan terhadap nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya (Prabowo, dkk., 2011; Sukaryono, dkk., 2017). Dalam penelitian ini akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali dinyatakan dalam nilai % *recovery*. Metode yang digunakan dalam menentukan nilai % *recovery* adalah metode adisi standar. Pada metode ini sampel yang akan dianalisis ditambahkan dengan larutan standar yang diketahui konsentrasinya untuk meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh berbagai matrik (Suriansyah, 2012). Menurut Syahputra (2004) dalam Suriansyah, (2012) metode ini mampu meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh perbedaan kondisi lingkungan (matrik) sampel dan standar.

Pada metode permanganometri nilai %*recovery* yang diperoleh dengan standar adisi 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm memiliki rentang 107,1 - 115,6%. Metode kompleksometri memiliki nilai rentang %*recovery* antara 99,8 - 106,2%, sedangkan metode spektrofotometri serapan atom memiliki nilai rentang 97,58 – 102,62%. Hasil penetapan nilai akurasi metode spektrofotometri serapan atom juga dikonfirmasi dengan melakukan pengukuran pada *Certified Reference Material (CRM)* dengan nilai *true value* 12,3 mg/L, hasil pengukuran CRM didapatkan kadar terukur 11,73 mg/L, sehingga berdasarkan nilai tersebut diperoleh nilai akurasi 95,36%.

Ketiga rentang nilai akurasi yang diperoleh tersebut apabila dibandingkan dengan standar yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu 90-108%, nilai %*recovery* metode kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom berada pada rentang yang dipersyaratkan, sedangkan metode permanganometri melebihi standar akurasi yang dipersyaratkan yaitu lebih besar 7,6% dari batas tertinggi yang dipersyaratkan. Penyimpangan-penyimpangan yang terjadi pada hasil analisis akurasi dapat disebabkan oleh kesalahan sistematis. Kesalahan sistematis dapat disebabkan oleh kelemahan metode uji atau teknik pengukuran, kondisi lingkungan, dan kesalahan peralatan atau instrumentasi (Soraya, 2009).

Parameter validasi selanjutnya adalah nilai presisi. Presisi merupakan ukuran keterulangan atau konsistensi kedekatan suatu hasil pemeriksaan apabila dilakukan secara berulang pada sampel yang homogen. Nilai presisi menunjukkan kesalahan acak yang terjadi dalam sebuah metode, disebabkan oleh pengaruh faktor-faktor yang tidak dapat diperkirakan atau diprediksi dan hanya bersifat sementara (Soraya 2009; Riyanto, 2014). Nilai presisi dari metode analisis biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku relative (%RSD) atau koefisien variasi (CV) (Eldin, 2011). Hasil penetapan nilai koefisien variasi permanganometri memiliki nilai CV 1,91%, metode kompleksometri 1,92%, spektrofotometri serapan atom adalah 1,66%.

Metode spektrofotometri serapan atom memiliki nilai CV yang lebih rendah dari pada metode kompleksometri dan permanganometri, namun ketiga metode memiliki nilai CV yang sesuai dengan dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu maksimal 2% yang menunjukkan ketiga

metode memiliki presisi yang baik. Semakin kecil % RSD yang dihasilkan maka semakin tinggi tingkat ketelitian suatu metode analisis (Riyanto, 2014).

Parameter linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memberikan hasil yang proporsional terhadap konsentrasi analit pada rentang tertentu (Wenclawiak dan Hadjicostas, 2010; Maryati, 2011). Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Dalam uji linieritas akan diperoleh suatu persamaan $y = bx + a$ (b adalah slope, a adalah intersep, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Riyanto, 2014).

Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar dan rohman, 2016). Hasil penentuan nilai linieritas dari masing-masing metode analisis diketahui metode permanganometri memiliki nilai koefisien korelasi (r) 0,9964. Nilai tersebut lebih rendah dari koefisien korelasi (r) metode kompleksometri yaitu 0,9975, dan metode spektrofotometri serapan atom dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9982. Uji linearitas suatu metode memenuhi syarat jika koefisien relasi mendekati nilai 1 (Supriatno dan Lelifajri 2009).

Berdasarkan hasil penetapan nilai linieritas tersebut dapat diketahui metode spektrofotometri serapan atom memiliki nilai linieritas yang lebih tinggi dibandingkan metode permanganometri dan kompleksometri, namun ketiga metode memiliki nilai *coefficient of determination* (R^2) sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh *Association of Official Analytical Chemist* (2012), yaitu lebih

besar dari 0,99. Hal ini menunjukkan adanya korelasi linier yang menyatakan terdapatnya hubungan yang proporsional antara konsentrasi dengan absorbansi pada metode spektrofotometri serapan atom dan konsentrasi dengan volume titran pada metode permanganometri dan kompleksometri.

Parameter terakhir yang digunakan untuk menentukan kemampuan metode dalam menganalisa kadar kalsium dalam sampel adalah *limit of detection* dan *limit of quantification*. Batas deteksi (*Limit Of Detection/LOD*) merupakan batas konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi tidak secara kuantitatif; sedangkan batas kuantifikasi (*Limit Of Quantification/LOQ*) adalah batas konsentrasi analit terendah yang dapat diterapkan secara kuantitatif dengan tingkat akurasi dan presisi yang dapat diterima ketika metode yang dimaksud diaplikasikan (Vera, 2011). Nilai batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) diperoleh dari perhitungan persamaan regresi linier secara statistik.

Pada metode permanganometri diperoleh nilai batas deteksi 15,34 ppm, sedangkan nilai batas kuantifikasi 51,16 ppm. Nilai LOD dan LOQ tersebut menunjukkan bahwa metode permanganometri dapat mendeteksi kadar terendah 15,34 ppm, namun batas kadar yang dapat dikuantifikasi secara akurasi dan presisi adalah 51,16 ppm. Konsentrasi 51,16 ppm merupakan konsentrasi terendah yang dapat dianalisis oleh metode permanganometri yang tidak menimbulkan bias perhitungan (Ambarwati, 2013). Metode kompleksometri diperoleh nilai batas deteksi 12,88 ppm, sedangkan nilai batas kuantifikasi 42,95 ppm. Nilai LOD dan LOQ tersebut menunjukkan bahwa metode kompleksometri dapat mendeteksi kadar terendah 12,88 ppm, namun batas kadar yang dapat dikuantifikasi secara akurasi dan presisi adalah 42,95 ppm.

Metode spektrofotometri serapan atom memiliki nilai batas deteksi 0,493 ppm dan batas kuantifikasi 1,643 ppm. Nilai LOD dan LOQ tersebut menunjukkan bahwa metode spektrofotometri serapan atom dapat mendeteksi kadar terendah 0,493 ppm, namun batas kadar yang dapat dikuantifikasi secara akurasi dan presisi adalah 1,643 ppm. Konsentrasi 1,643 ppm merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menimbulkan bias perhitungan (Ambarwati, 2013). Menurut Prabowo, dkk., (2012) nilai batas deteksi dan batas kuantifikasi merupakan parameter sensitivitas dari suatu metode analisis, semakin kecil nilai batas deteksi dan kuantifikasi menandakan semakin sensitif suatu metode dalam menganalisis dan mengukur kadar suatu analit.

Menurut Sulistyaningrum, dkk., (2014) nilai LOD dan LOQ dipengaruhi oleh persamaan regresi linier yang diperoleh yaitu nilai *slope*. Nilai *slope* rendah akan menyebabkan batas deteksi dan batas kuantifikasi dari suatu metode semakin tinggi sehingga mengurangi kemampuan metode dalam mendeteksi dan mengkuantifikasi analit dalam kadar rendah. Dari ketiga metode yang digunakan untuk menetapkan kadar kalsium dalam penelitian ini, metode spektrofotometri dapat mendeteksi dan mengkuantifikasi kalsium dalam kadar yang lebih rendah dari metode permanganometri dan kompleksometri. Hal ini menunjukkan sensitivitas metode spektrofotometri serapan atom lebih tinggi dibandingkan permanganometri dan kompleksometri, sedangkan sensitivitas metode kompleksometri lebih tinggi dari permanganometri.

Berdasarkan hasil validasi metode, dapat diketahui bahwa metode spektrofotometri serapan atom memiliki kemampuan paling baik diantara metode kompleksometri dan permanganometri dalam menganalisa kadar kalsium pada

sampel bahan pangan berdasarkan nilai akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi dan batas kuantifikasi. Pemilihan metode analisis untuk menentukan kadar suatu zat didasarkan pada sensitivitas, dan spesifitas atau selektivitas metode. Selain didasarkan pada hal tersebut, pemilihan metode analisis juga didasarkan pada pertimbangan seperti biaya, waktu analisis, dan ketersediaan alat di laboratorium.

Metode titrimetri banyak digunakan karena murah, sederhana, dan tidak memerlukan peralatan laboratorium yang canggih, namun penggunaan metode analisis modern seperti spektrofotometri serapan atom lebih efisien dalam segi waktu dibanding dengan metode konvensional serta memiliki beberapa kelebihan yaitu waktu analisis cepat, volume sampel yang diperlukan sedikit, dan memiliki sensitivitas tinggi (Sabrina, dkk., 2012; Techinamuti & Pratiwi, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian ini, pemilihan metode analisis juga dapat ditentukan berdasarkan perkiraan kadar kalsium dalam sampel. Apabila diperkirakan kadar kalsium dalam suatu sampel rendah disarankan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom karena memiliki batas deteksi kurang dari 1 ppm (Gandjar dan Rohman, 2012), sedangkan apabila diperkirakan kandungan kalsium dalam sampel tinggi maka penetapan kadar dapat menggunakan metode konvensional titrasi.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang diperoleh maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

1. Hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode permanganometri didapatkan nilai rata-rata 1660,97 mg/Kg.
2. Hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode kompleksometri didapatkan hasil 1230,23 mg/Kg.
3. Hasil penetapan kadar kalsium dalam ikan teri menggunakan metode spektrofotometri didapatkan hasil 1248,75 mg/Kg.
4. Hasil analisis perbedaan kadar kalsium, diperoleh hasil penetapan kadar kalsium metode permanganometri berbeda dengan kompleksometri dan spektrofotometri serapan atom, sedangkan hasil penetapan kadar kalsium menggunakan metode kompleksometri tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan spektrofotometri serapan atom.

7.2 Saran

1. Penetapan kadar kalsium pada bahan pangan dapat menggunakan metode spektrofotometri serapan atom untuk memperoleh hasil pengukuran yang akurasi dan presisi dengan batas deteksi dan kuantifikasi analit yang rendah atau disarankan menggunakan metode konvensional titrasi kompleksometri karena hasil yang didapatkan tidak memiliki perbedaan bermakna secara statistik.

2. Kepada peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan perbandingan metode penetapan kadar dengan menggunakan parameter uji validasi lainnya serta diharapkan dapat melakukan uji optimasi berupa pengembangan sensitivitas, spesifitas dan selektivitas metode analisis dalam menganalisa kadar kalsium pada bahan pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalgader R. A., R. S. Mohamed, H. A. Mohamed, M. M. Gaily, M. A. Suliman, and M. M. Ibrahim. 2016. Development & Validation of Compleximetric Titration Method for Analysis of Atorvastatin calcium In Raw Material and Tablet Dosage Form. *American Journal of Research Communication* Vol 4(11).
- Agustina, A., H. M. Choiril, R. Hidayat. 2017. Pengaruh Perebusan Terhadap Kadar Kalsium Pada Bayam Hijau (*Amaranthus tricolor, L*) Dengan Metode Kompleksometri. Vol. 12. No. 24.
- Ambarwati, N. Ariyani dan M. F. Palupi. 2013. Validation of the Spectrophotometry method on the concentration assessment of Enrofloxacin as the animal drug. *Jurnal Sains Veteriner* 31(2).
- Amrullah, F. 2012. Kadar Protein dan Ca pada Ikan Teri Asin Hasil Pengasinan dengan Abu Pelepah Kelapa. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo.
- Aryati, E., A. W. S. Dharmayanti. 2014. Manfaat Ikan Teri Segar (*Stolephorus Sp*) Terhadap Pertumbuhan Tulang Dan Gigi. *ODONTO Dental Journal*. Volume 1. Nomor 2.
- Astawan, M. 2008. *Khasiat Warna Warni Makanan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International (19th ed.). Maryland, MD: AOAC International Press. Available at: https://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC/Publications
- Bakhtra, D. D. A., Zulharmita, dan V. Pramudita. 2015. Penetapan Kadar Zink Pada Sediaan Farmasi Dengan Metode Kompleksometri Dan Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 7, No. 2.
- Basak, S., & Kundu, D. 2013. Evaluation of measurement uncertainty components associated with the results of complexometric determination of calcium in ceramic raw materials using EDTA. *Accreditation and Quality Assurance*, 18(3), 235-241.
- Beto, J. A. 2015. The role of calcium in human aging. *Clinical nutrition research*, 4(1), 1-8. <https://doi.org/10.7762/cnr.2015.4.1.1>
- Day, R. A dan Underwood, A. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi Ke-6, Erlangga, Jakarta.
- Eldin, A. B. 2011. Validation of an Analytical Procedure. Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas. *Sigma Pharmaceutical Corp*. DOI: 10.5772/22480.

- Emawati, E., N. S. Yani, dan Idar. 2017. Analisis Kandungan Fosfor (P) Dalam Dua Varietas Kubis (*Brassica oleracea*) Di Daerah Lembang Bandung. *Suplement 1*, No 1.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A. 2016. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Herliani, D. D., T. Gozali, N. Suliasih. 2016. Pengaruh Penambahan Ikan Teri (*Stolephorus commersonii*) dan Suhu Pengeringan Terhadap Karakteristik Dendeng Batang Talas (*Colocasia esculenta (l) schott*). Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik. Bandung: Universitas Pasundan.
- Idera, F., Omotola, O., Adedayo, A., & Paul, U. 2015. Comparison of Acid Mixtures Using Conventional Wet Digestion Methods for Determination of Heavy Metals in Fish Tissues. *Journal of Scientific Research & Reports*. 8(7), 1–9.
- Irianto, K. 2014. *Epidemiologi Penyakit Tidak Menular*. Bandung: Alfabeta.
- Jasaputra, D., K., S. Santosa. 2008. *Metode Penelitian Biomedis*. Edisi 2. Bandung: PT. Danamartha Sejahtera Utama –Grafika.
- Juniati, A. 2010. Pemanfaatan Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Untuk Meningkatkan Kadar Kalsium Pada Kerupuk Bawang. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Kapadnis, K. H. 2015. Magnesium and calcium estimation from fresh milk samples in nashik region by a simple method. *World Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 4(12), 793-797
- Kazusaki, M., Ueda, S., Takeuchi, N., & Ohgami, Y. 2012. Validation of analytical procedures by high– performance liquid chromatography for pharmaceutical analysis. *Chromatography*, 33(2), 65-73. <https://doi.org/10.15583/jpchrom.2012.005>
- Kumaravel, S., & Alagusundaram, K. 2014. Determination of mineral content in Indian spices by ICP-OES. *Oriental journal of chemistry*, 30(2), 631-636. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300231>
- Limawan, D., Yanti, M., S. H. M. Kaligis. 2015. Gambaran Kadar Kalsium Serum Pada Usia 60-74 Tahun. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 3, Nomor 1 (243-257).

- Manuhutu, Octaviana. 2009. Penetapan Kadar Lidokain Hcl Dalam Sediaan Injeksi Secara Spektrofotometri Serapan Atom Tidak Langsung. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Maryam, Siti. 2016. *Gizi dalam Kesehatan Reproduksi*. Jakarta: Salemba Medika.
- Maryati, Sri. 2011. Verifikasi dan evaluasi penerapan metode uji cemaran arsen dalam makanan secara spektrofotometri. *Beritan Litbang Industri XLVI (1)* : 6–13.
- Miefthawati. N. P., L. Gusrina, & F. Axela. 2013. Penetapan Kadar Kalsium Pada Ikan Kembung Segar dan Ikan Kembung Asin Secara Kompleksometri. *Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains* 1:1-9.
- Munith, N. A. 2011. *Buku Ajar Metodologi Penelitian Kesehatan : Konsep Pembuatan Karya Tulis dan Thesis untuk Mahasiswa Kesehatan*. Edisi 1. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Najwa, F. R., A. Azrina. 2017. Comparison of vitamin C content in citrus fruits by titration and high performance liquid chromatography (HPLC) methods. *International Food Research Journal* 24(2): 726-733.
- Nielsen, S. S. 2010. Complexometric Determination of Calcium. In Nielsen, S.S. (Ed.). *Food analysis laboratory manual* (pp. 61-67). New York, NY: Springer.
- Noriyanti, T. 2012. Analisis Kalsium, Kadmium Dan Timbal Pada Susu Sapi Secara Spektrofotometri Serapan Atom. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi 2. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nurrahmani, Ulfah. 2015. *Stop Osteoporosis*. Yogyakarta: Familia.
- Nurhafni. 2011. Penetapan Kadar Kalsium Pada Ikan Teri Secara Titrasi Kompleksometri. Fakultas Farmasi: Universitas Sumatra Utara. Online: <https://id.123dok.com//document/7qvl770y-penetapan-kadar-kalsium-pada-ikan-teri-secara-kompleksometri.html>
- Patel, M., D. A. Patel, & B. Gajra. 2011. Validation of Analytical Procedure: Methodology. *International Journal Of Review Article Pharmaceutical Innovations*. Vol. 1, issue 2. ISSN 2249 –1031
- Petrovich, M. B., Filho, V. R. A., & Neto, J. A. G. 2007. Direct determination of calcium in milk by atomic absorption spectrometry using flow-injection analysis. *Eclética Química*, 32(3), 25-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702007000300004>

- Poirier, L., Nelson, J., Leong, D., Berhane, L., Hajdu, P., & Lopez-Linares, F. 2016. Application of ICP-MS and ICP-OES on the determination of nickel, vanadium, iron, and calcium in petroleum crude oils via direct dilution. *Energy & Fuels*, 30(5), 3783-3790. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b02997>
- Prabowo, M. H., A. Wibowo, L. Fauziyah. 2012. Pengembangan Dan Validasi Metode Analisis Rifampicin Isoniazid-Pirazinamid Dalam Fixed Dose Combination Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi* Vol. 9 No. 2
- Putra, F. A. dan R. D. Sugiarto. 2016. Perbandingan Metode Analisis Permanganometri dan Serimetri dalam Penentuan Kadar Besi(II). *Jurnal Sains Dan Seni* Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Vol. 5, No.1, (2016) 2337-3520 (2301-928X Print).
- Rahmadani, S. 2011. Penentuan Kadar Kalsium Dengan Metode Permanganometri Terhadap Tempe Yang Dibungkus Plastik Dan Daun Di Pasar Arengka Pekan Baru. Skripsi. Fakultas Tarbiyah Dan Keguruan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Riau. Tersedia di: http://repository.uin-suska.ac.id/1369/1/2011_2011636.pdf
- Ravisankar, P., N. Navya, D. Pravallika¹, D. N. Sri. 2015. Review on Step-by-Step Analytical Method Validation Panchumarthy. *IOSR Journal Of Pharmacy*. Volume 5, Issue 10 (7-19).
- Riyanto. 2014. Validasi dan Verifikasi Metode Uji. Yogyakarta: *Deepublish Publisher*
- Sabrina A., S. Wonorahardjo, & N. Zakia. 2012. Perbandingan Metode Spektrofotometri UV-Vis dan KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) pada Analisis Kadar Asam Benzoat dan Kafein dalam Teh Kemasan. Universitas Negeri Malang.
- Sallamah, E., S. Purwaningsih, & R. Kurnia. 2012. Kandungan Mineral Remis (*Corbicula Javanica*) Akibat Proses Pengolahan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan: Institut Pertanian Bogor. *Jurnal Akuatika* Vol. 3, No. 1 (74-83).
- Santoso, Hendro. 1997. Uji Banding Metode Analisis Konvensional Dan Instrumental Untuk Penentuan Kalsium Dan Fosfor. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. JKTI, VOL. 7, No. 1-2.
- Setyaningtyas, T., R. Andreas, & K. Riyani. 2008. Potensi Humin Hasil Isolasi Tanah Hutan Damar Baturraden Dalam Menurunkan Kesadahan Air. *Jurnal Molekul*, 3(2). Purwokerto: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jendral Sudirman.

- Sowmya, R., Indumathi, K. P., Arora, S., Sharma, V., & Singh, A. K. 2015. Detection of calcium based neutralizers in milk and milk products by AAS. *Journal of food science and technology*, 52(2), 1188-1193.
- Soraya, I. A. 2009. Validasi Metode Analisis Klorida Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia
- Sugiyono. 2014. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, Dan R & D*, in. Bandung: Alfabeta, pp. 39–41.
- Sugiyono. 2017. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, Dan R & D*. Bandung: Alfabeta.
- Sukaryono I. D., S. Hadinoto, dan L. R. Fasa. 2017. Verifikasi Metode Pengujian Cemaran Logam Pada Air Minum Dalam Kemasan (Amdk) Dengan Metode Aas-Gfa. *BIAM* 13 (01) (2017) 8-16.
- Supriatno dan Lelifajri. 2009. Analisis logam berat Pb dan Cd dalam sampel ikan dan kerang secara Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan* 7 (1) : 5-8.
- Suriansyah, A., Gusrizal, dan Adhitiyawarman. 2012. Alibrasi Dan Adisi Standar Pada Pengukuran Merkuri Dalam Air Dengan Kandungan Senyawa Organik Tinggi Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom.
- Susanti, N. N., Y. Sukmawardani, I. Musfiroh. 2016. Analisis Kalium dan Kalsium pada Ikan Kembung dan Ikan Gabus. Volume 3. No. 1.
- Taufik, M., Seveline, M. Adriyanti. 2018 (a). Evaluasi Penetapan Kadar Kalsium pada Minuman Yogurt secara Titrasi Kelatometri. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 7 (1). <https://doi.org/10.17728/jatp.2054>
- Taufik, M., Seveline, M. Adriyanti. 2018 (b). Validasi Metode Analisis Kadar Kalsium pada Susu Segar secara Titrasi Kompleksometri. *Agritech*, 3 8 (2) 2018, 187-193. <http://doi.org/10.22146/agritech.25459>
- Techinamuti, N., R. Pratiwi. 2018. Review: Metode Analisis Kadar Vitamin C. *Farmaka Suplemen* Volume 16 Nomor 2. DOI : <https://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17547>
- Thomsen, V., Schatzlein, D., dan Mercurio, D. 2003. *Limits of Detection in Spectroscopy*, *Spectroscopy*, 18, 12, 112-114, www.spectroscopyonline.com.
- Vallapragada, V.V., Inti, G., Ramulu, J.S. 2011. A validated inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) method to estimate free calcium and phosphorus in in vitro phosphate binding study of eliphos

- tablets. *American Journal of Analytical Chemistry* 2: 718- 725. doi: 10.4236/ajac.2011.26082
- Vera. 2011. Analisis Logam Timbal (Pb), Timah (Sn) Dan Kadmium (Cd) Dalam Buah Lengkek Kemasan Kaleng Secara Spektrofotometri Serapan Atom. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok. Indonesia.
- Wenclawiak, B., & Hadjicostas, E. 2010. Validation of Analytical Methods—to be Fit for the Purpose. In Wenclawiak, Bernd W., Koch, M., & Evsevios, H. (Eds.). *Quality Assurance in Analytical Chemistry* (pp. 215-245). Berlin Heidelberg: Springer
- Wenda, Rince. 2017. Analisis Kandungan Gizi Sinole Yang Ditambahkan Dengan Ikan Teri Dan Daya Terimanya. Skripsi. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatra Utara.
- Yang, L., Yan, Q., Cao, Y., & Zhang, H. 2012. Determination of Mineral Element of Some Coarse Grains by Microwave Digestion with Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. *European-Journal of Chemistry*, 9(1), 93–98.
- Yenrina, Rina. 2015. *Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif*. Edisi 1. Padang: AU Press (Andalas University Press).
- Yuyun, Y., Peuru, A., & Ibrahim, N. 2017. Analisis Kandungan Logam Berat Timbal dan Kadmium pada Pengolahan Ikan Asin di Kabupaten Banggai Kepulauan. *Journal of Pharmacy*, 3, 71–76.

LAMPIRAN 1
SURAT IJIN PENELITIAN KAMPUS JURUSAN ANALIS KESEHATAN



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA



Jl. Pucang Jajar Tengah No. 56 Surabaya - 60282
Telp. (031) 5027058 Fax. (031) 5028141

Website : www.poltekkesdepkes-sby.ac.id
Email : admin@poltekkesdepkes-sby.ac.id

SURAT IJIN
MELAKUKAN PEMAKAINAN SARANA LABORATORIUM

NOMOR : LB.02.01/1/549 / 2019

Memperhatikan Surat dari :

Nama : I Wayan Bagus Adigunawan
Tanggal : 27 Mei 2019
Perihal : Izin Pemakaian Laboratorium

Dengan ini kami menyatakan tidak keberatan atas permohonan ijin pemakaian sarana laboratorium oleh mahasiswa :

Nama : I Wayan Bagus Adigunawan
NIM : P27834118077
Program Studi : Diploma 4 Alih Jenjang
Tempat penelitian : Laboratorium Kimia Amami Jurusan Analis Kesehatan
Keperluan : Penelitian untuk penyusunan Skripsi
Judul Penelitian : Penetapan Kadar Kalsium dalam Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom.
Bahan dan Alat : terlampir

Sehubungan dengan izin pemakaian sarana Laboratorium tersebut, maka yang bersangkutan harus memperhatikan hal –hal sebagai berikut :

1. Mentaati segala peraturan dan Instruksi Kerja (IK) yang berlaku .
2. Menjaga Kebersihan, Kerapian, sarana dan prasarana laboratorium
3. Menghubungi dan melaporkan kepada Ka. Sub. Unit Laboratorium Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya (Bpk. Ratno Tri Utomo, S.ST) Dalam hal persiapan dan penggunaan fasilitas laboratorium.

Demikian atas perhatiannya, disampaikan terima kasih.

Surabaya, 27 Mei 2019

Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Surabaya

Drs. Edy Haryanto, M.Kes
NIP. 19640316 198302 1 001

LAMPIRAN 2
SURAT PERMOHONAN IJIN PENELITIAN DI BALAI BESAR
LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA



Jl. Pucang Jajar Tengah No. 56 Surabaya - 60282
Telp. (031) 5027058 Fax. (031) 5028141

Website : www.poltekkesdepkes-sby.ac.id
Email : admin@poltekkesdepkes-sby.ac.id

Surabaya, 27 Mei 2019

Nomor : PP.07.01/1/548/2019
Lampiran : -
Perihal : Permohonan izin Penelitian

Kepada Yth .
Kepala Balai Besar Laboratorium Kesehatan
Jl. Karangmenjangan No. 18
di
SURABAYA

Dengan Hormat,

Sehubungan akan dimulainya penyusunan Skripsi Sebagai Tugas Akhir bagi Mahasiswa Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya, kami mohon berkenan memberikan penelitian di BBLK Surabaya kepada mahasiswa kami :

Nama : I Wayan Bagus Adigunawan
NIM : P27834118077
Semester : 8 (Delapan)
Prodi : Diploma 4 Alih Jenjang Jurusan Analis Kesehatan
Judul Penelitian : Penetapan Kadar Kalsium dalam Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)
Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom.

Adapun hasil pemeriksaan tersebut digunakan untuk penelitian dalam penyusunan Skripsi bagi mahasiswa kami.

Demikian atas perhatian dan perkenannya kami ucapkan terima kasih.

An Direktur Poltekkes Kemenkes Surabaya
Ketua Jurusan Analis Kesehatan


Drs. Edy Haryanto, M.Kes
NIP. 19640316 198302 1 001

LAMPIRAN 3 HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian Spektrofotometri Serapan ATom

	<p>KEMENTERIAN KESEHATAN RI DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286 Telepon Pelayanan : (031)5020306; TU : (031)5021451; Faksimili : (031)5020388 Website : bblksurabaya.id; Surat Elektronik : bblksub@yahoo.co.id</p>																																											
<h3>HASIL PENGUJIAN CONTOH BAHAN</h3>																																												
<p>Nomor Lab. : L 19005553 / 0429 - 0443 / BHN / V / 2019 Dikirim oleh : I WAYAN BAGUS ADIGUNAWAN Alamat : Kedung Tarukan Baru Gg. III A No. 3 Surabaya Jenis Bahan : Ikan Teri Contoh diambil oleh : Yang bersangkutan Tanggal pengambilan Contoh : 13 Mei 2019 Tanggal diterima di BBLK : 13 Mei 2019</p>																																												
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">No.</th> <th rowspan="2">KODE BAHAN</th> <th colspan="6">HASIL KALSIMUM (Ca)</th> <th rowspan="2">SATUAN</th> </tr> <tr> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.</td> <td>Ikan Teri R1</td> <td>1249,3</td> <td>1199,6</td> <td>1208,4</td> <td>1240,9</td> <td>1232,8</td> <td>1209,0</td> <td>mg/Kg</td> </tr> <tr> <td>2.</td> <td>Ikan Teri R2</td> <td>1273,6</td> <td>1442,5</td> <td>1272,1</td> <td>1161,4</td> <td>1323,5</td> <td>1210,3</td> <td>mg/Kg</td> </tr> <tr> <td>3.</td> <td>Ikan Teri R3</td> <td>1315,2</td> <td>1256,7</td> <td>1318,2</td> <td>1284,3</td> <td>1239,4</td> <td>1263,7</td> <td>mg/Kg</td> </tr> </tbody> </table>			No.	KODE BAHAN	HASIL KALSIMUM (Ca)						SATUAN	1	2	3	4	5	6	1.	Ikan Teri R1	1249,3	1199,6	1208,4	1240,9	1232,8	1209,0	mg/Kg	2.	Ikan Teri R2	1273,6	1442,5	1272,1	1161,4	1323,5	1210,3	mg/Kg	3.	Ikan Teri R3	1315,2	1256,7	1318,2	1284,3	1239,4	1263,7	mg/Kg
No.	KODE BAHAN	HASIL KALSIMUM (Ca)						SATUAN																																				
		1	2	3	4	5	6																																					
1.	Ikan Teri R1	1249,3	1199,6	1208,4	1240,9	1232,8	1209,0	mg/Kg																																				
2.	Ikan Teri R2	1273,6	1442,5	1272,1	1161,4	1323,5	1210,3	mg/Kg																																				
3.	Ikan Teri R3	1315,2	1256,7	1318,2	1284,3	1239,4	1263,7	mg/Kg																																				
<p>Perhatian :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Hasil pengujian ini hanya berlaku untuk contoh diatas ▪ Hasil ini tidak boleh dipergunakan untuk keperluan iklan/Reklame ▪ Dilarang menggandakan dokumen ini tanpa seijin pihak BBLK Surabaya 																																												
<p style="text-align: center;">21 Mei 2019  Manajer Teknik, </p> <p style="text-align: center;">  Mochammad Feri Hadiyanto, S.Si NIP 19810211 200912 1 004</p>																																												

B. Hasil Penelitian Metode Permanganometri dan Kompleksometri



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA



Jl. Pucang Jajar Tengah No. 56 Surabaya - 60282
 Telp. (031) 5027058 Fax. (031) 5028141

Website : www.poltekkesdepkes-sby.ac.id
 Email : admin@poltekkesdepkes-sby.ac.id

HASIL PEMERIKSAAN

...O.B.A./H.CAB./2019

Nama : I Wayan Bagus Adigunawan (D4AJ)
 NIM : P27834118077
 Judul Skripsi : Penetapan Kadar Kalsium Dalam Ikan Teri (*Stolephorus Sp.*)
 Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri
 Dan Spektrofotometri Serapan Atom
 Pemeriksaan : Kadar Kalsium dengan metode Permanganometri dan
 Kompleksometri
 Tanggal Penelitian : 24-26 April 2019

Penetapan Kadar Kalsium Menggunakan Metode Permanganometri

Ulangan	Metode Permanganometri		
	Kadar (mg/Kg)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	1665.17	1687.00	1581.82
2	1665.17	1750.26	1539.64
3	1727.61	1750.26	1581.82
4	1665.17	1687.00	1539.64
5	1727.61	1750.26	1581.82
6	1665.17	1687.00	1581.82
Rata-rata	1685.98	1718.63	1567.76
Standar Deviasi	32.25	34.65	21.78

Penetapan Kadar Kalsium Menggunakan Metode Kompleksometri

Ulangan	Metode Kompleksometri		
	Kadar (mg/Kg)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	1158.34	1280.42	1280.21
2	1116.22	1280.42	1258.87
3	1158.34	1259.08	1280.21
4	1116.22	1259.08	1280.21
5	1116.22	1280.42	1216.20
6	1116.22	1280.42	1280.21
Rata-rata	1130.26	1273.31	1265.98
Standar Deviasi	21.75	11.02	25.84

Surabaya, 29 Mei 2019

Mengetahui,
 Ketua Jurusan Politeknik Kesehatan Surabaya


 Drs. Edy Karyanto, M.Kes
 NIP. 19640316 198302 1 001

Ka. Sub Unit
 Laboratorium & Bengkel Kerja


 Ratno Tri Utomo, S.S.T
 NIP. 19820421 200604 1 013

LAMPIRAN 4
PERHITUNGAN KADAR KALSIUM, NILAI AKURASI, PRESISI,
LINIERTAS, LIMIT OF DETECTION, DAN
LIMIT OF QUANTIFICATION

A. Data Penetapan Kadar

1. Metode Permanganometri

Tabel L.1 Data Volume Titran (KMnO_4) dan Hasil Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Permanganometri

Ulangan	Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
	Volume titran (mL)	Kadar (mg/Kg)	Volume titran (mL)	Kadar (mg/Kg)	Volume titran (mL)	Kadar (mg/Kg)
1	0.80	1665.17	0.80	1687.00	0.75	1581.82
2	0.80	1665.17	0.83	1750.26	0.73	1539.64
3	0.83	1727.61	0.83	1750.26	0.75	1581.82
4	0.80	1665.17	0.80	1687.00	0.73	1539.64
5	0.83	1727.61	0.83	1750.26	0.75	1581.82
6	0.80	1665.17	0.80	1687.00	0.75	1581.82
Rata-rata	0.81	1685.98	0.82	1718.63	0.74	1567.76
SD	0.02	32.25	0.02	34.65	0.01	21.78

2. Metode Kompleksometri

Tabel L.2 Data Volume Titran (Na_2EDTA) dan Hasil Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Kompleksometri

Ulangan	Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
	Volume titran (mL)	Kadar (mg/Kg)	Volume titran (mL)	Kadar (mg/Kg)	Volume titran (mL)	Kadar (mg/Kg)
1	0.55	1158.34	0.60	1280.42	0.60	1280.21
2	0.53	1116.22	0.60	1280.42	0.59	1258.87
3	0.55	1158.34	0.59	1259.08	0.60	1280.21
4	0.53	1116.22	0.59	1259.08	0.60	1280.21
5	0.53	1116.22	0.60	1280.42	0.57	1216.20
6	0.53	1116.22	0.60	1280.42	0.60	1280.21

Rata-rata	0.54	1130.26	0.60	1273.31	0.59	1265.98
SD	0.01	21.75	0.01	11.02	0.01	25.84

3. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Tabel L.3 Data absorbansi dan Hasil Penetapan Kadar Kalsium dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Ulangan	Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
	Absorbansi	Kadar (mg/Kg)	Absorbansi	Kadar (mg/Kg)	Absorbansi	Kadar (mg/Kg)
1	1.1285	1199.61	1.1803	1273.58	1.2176	1315.16
2	1.1365	1208.46	1.3311	1442.50	1.1654	1256.68
3	1.1658	1240.86	1.1790	1272.13	1.2203	1318.19
4	1.1585	1232.79	1.0802	1161.42	1.1901	1284.35
5	1.1370	1209.01	1.2249	1323.50	1.1500	1239.42
6	1.1734	1249.27	1.1238	1210.27	1.1717	1263.74
Rata-rata	1.15	1223.33	1.20	1280.57	1.19	1279.59
SD	0.02	20.29	0.09	97.29	0.03	32.15

B. Data Uji Akurasi

1. Metode Permanganometri

Tabel L.4 Data %*Recovery* Uji Akurasi Metode Permanganometri

Replikasi	Variasi Adisi	Volume Titran (mL)	Kadar (mg/L)	% Recovery
1	Blanko	0.45	45.90	0
		0.40	40.80	
	Rata-rata	0.43	43.35	112.2
		0.95	96.90	
	50 ppm	1.00	102.00	117.3
		0.98	99.45	
	100 ppm	1.60	163.20	95.6
		1.55	158.10	
	Rata-rata	1.58	160.65	234.60
		2.30	234.60	
	200 ppm	2.30	234.60	234.60
		2.30	234.60	
Rata-rata	2.30	234.60		

2	Blanko	0.50	51.00	0
		0.55	56.10	
	Rata-rata	0.53	53.55	
	50 ppm	1.10	112.20	117.3
		1.10	112.20	
	Rata-rata	1.10	112.20	
	100 ppm	1.60	163.20	109.7
		1.60	163.20	
	Rata-rata	1.60	163.20	
200 ppm	2.75	280.50	112.2	
	2.70	275.40		
	Rata-rata	2.73		277.95
3	Blanko	0.40	40.80	0
		0.40	40.80	
	Rata-rata	0.40	40.80	
	50 ppm	0.80	81.60	91.8
		0.90	91.80	
	Rata-rata	0.85	86.70	
	100 ppm	1.55	158.10	119.9
		1.60	163.20	
	Rata-rata	1.58	160.65	
200 ppm	2.60	265.20	114.8	
	2.70	275.40		
	Rata-rata	2.65		270.30

2. Metode Kompleksometri

Tabel L.5 Data %*Recovery* Uji Akurasi Metode Kompleksometri

Replikasi	Variasi Adisi	Volume Titran (mL)	Kadar (mg/L)	% Recovery
1	Blanko	0.30	30.96	0
		0.35	36.12	
	Rata-rata	0.33	33.54	
		50 ppm	0.75	77.40
	0.80		82.56	
	Rata-rata	0.78	79.98	
	100 ppm	1.40	144.49	110.9
		1.40	144.49	
	Rata-rata	1.40	144.49	
200 ppm	2.20	227.05	94.2	
	2.10	216.73		
	Rata-rata	2.15		221.89

2	Blanko	0.40	41.28	0
		0.40	41.28	
	Rata-rata	0.40	41.28	
	50 ppm	0.95	98.05	108.4
		0.90	92.89	
	Rata-rata	0.93	95.47	
	100 ppm	1.30	134.17	95.5
		1.35	139.33	
	Rata-rata	1.33	136.75	
	200 ppm	2.60	268.34	113.5
2.60		268.34		
Rata-rata	2.60	268.34		
3	Blanko	0.40	41.28	0
		0.40	41.28	
	Rata-rata	0.40	41.28	
	50 ppm	0.95	98.05	113.5
		0.95	98.05	
	Rata-rata	0.95	98.05	
	100 ppm	1.30	134.17	92.9
		1.30	134.17	
	Rata-rata	1.30	134.17	
	200 ppm	2.50	258.02	110.9
2.60		268.34		
Rata-rata	2.55	263.18		

3. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Tabel L.6 Data %*Recovery* Uji Akurasi Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Replikasi	Variasi Adisi	Absorbansi	Kadar (mg/L)	% Recovery
1	Blanko	0.8044	4.1222	0
	Adisi 2 ppm	1.1608	6.0536	96.57
	Adisi 5 ppm	1.7897	9.4617	106.79
	Adisi 10 ppm	2.6997	14.3932	102.71
2	Blanko	0.913	4.7108	0
	Adisi 2 ppm	1.2779	6.6882	98.87
	Adisi 5 ppm	1.8743	9.9202	104.19
	Adisi 10 ppm	2.6963	14.3748	96.64

3	Blanko	0.9548	4.9373	0
	Adisi 2 ppm	1.3139	6.8833	97.30
	Adisi 5 ppm	1.8486	9.7809	96.87
	Adisi 10 ppm	2.7597	14.7183	97.81

C. Data Uji Presisi

1. Metode Permanganometri

Tabel L.7 Data Uji Presisi Metode Permanganometri

Ulangan	Volume Titran	Kadar (mg/L)	Kadar (mg/Kg)
1	0.80	81.60	1665.17
2	0.80	81.60	1665.17
3	0.83	84.66	1727.61
4	0.80	81.60	1665.17
5	0.83	84.66	1727.61
6	0.80	81.60	1665.17
Rata-rata	0.81	82.62	1685.98
Standar Deviasi	0.02	1.58	32.25
CV	1.91	1.91	1.91

2. Metode Kompleksometri

Tabel L.8 Data Uji Presisi Metode Kompleksometri

Ulangan	Volume Titran	Kadar (mg/L)	Kadar (mg/Kg)
1	0.55	56.76	1158.34
2	0.53	54.70	1116.22
3	0.55	56.76	1158.34
4	0.53	54.70	1116.22
5	0.53	54.70	1116.22
6	0.53	54.70	1116.22
Rata-rata	0.54	55.39	1130.26
Standar Deviasi	0.01	1.07	21.75
CV	1.92	1.92	1.92

3. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Tabel L.9 Data Uji Presisi Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Ulangan	Absorbansi	Kadar (mg/L)	Kadar (mg/Kg)
1	1.1285	5.8786	1199.61

2	1.1365	5.9219	1208.46
3	1.1658	6.0807	1240.86
4	1.1585	6.0412	1232.79
5	1.1370	5.9246	1209.01
6	1.1734	6.1219	1249.27
Rata-rata	1.15	5.99	1223.33
Standar Deviasi	0.02	0.10	20.29
CV	1.60	1.66	1.66

D. Data Uji Linieritas

1. Metode Permanganometri

Tabel L.10 Data Uji Linieritas Metode Permanganometri

Konsentrasi (ppm)	Volume rata-rata (y)	yi	(y-yi)	(y-yi) ²
40	0.45	0.43	0.0193	3.7×10^{-4}
80	0.80	0.84	-0.0427	1.82×10^{-3}
120	1.30	1.25	0.0453	2.05×10^{-3}
160	1.63	1.67	-0.0367	1.35×10^{-3}
200	2.15	2.08	0.0713	5.08×10^{-3}
240	2.47	2.49	-0.0207	4.3×10^{-4}
Jumlah				1.11×10^{-2}

$$y = 0.0103x + 0.0187 \text{ dengan } (R^2) = 0,9964$$

2. Metode Kompleksometri

Tabel L.11 Data Uji Linieritas Metode Kompleksometri

Konsentrasi (ppm)	Volume rata-rata (y)	yi	(y-yi)	(y-yi) ²
40	0.45	0.4687	-0.0187	3.5×10^{-4}
80	0.9	0.8687	0.0313	9.8×10^{-4}
120	1.27	1.2687	0.0013	1.7×10^{-6}
160	1.65	1.6687	-0.0187	3.5×10^{-4}
200	2	2.0687	-0.0687	4.7×10^{-3}
240	2.5	2.4687	0.0313	9.8×10^{-4}
Jumlah				7.38×10^{-3}

$$y = 0,01x + 0,0687 \text{ dengan nilai } (R^2) 0,9975$$

3. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Tabel L.12 Data Uji Linieritas Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	y_i	(y-yi)	(y-yi) ²
0	0.0135	0.0437	-0.0302	9.1351 x 10 ⁻⁴
1	0.2596	0.2283	0.0313	9.8250 x 10 ⁻⁴
2	0.4303	0.4128	0.0175	3.0677 x 10 ⁻⁴
5	0.9564	0.9664	-0.0100	1 x 10 ⁻⁴
10	1.9104	1.8890	0.0214	4.5689 x 10 ⁻⁴
Jumlah				2.7592 x 10 ⁻³

$$y = 0.18453x + 0.043725 \text{ dengan nilai } (R^2) 0,9982$$

E. Data Uji *Limit of detection* dan *Limit of quantification*

1. Metode Permanganometri

Tabel L.13 Data Uji *Limit of detection* dan *Limit of quantification* Metode Permanganometri

<i>Slope</i>	0.0103
$\sum (y-y_i)^2/n-2$	2.776 x 10 ⁻³
S(y/x)	5.269 x 10 ⁻²
<i>Limit Of Detection</i>	15.34 ppm
<i>Limit Of Quantification</i>	51.16 ppm

2. Metode Kompleksometri

Tabel L.14 Data Uji *Limit of detection* dan *Limit of quantification* Metode Kompleksometri

<i>Slope</i>	0.01
$\sum (y-y_i)^2/n-2$	1.845 x 10 ⁻³
S(y/x)	4.295 x 10 ⁻²
<i>Limit Of Detection</i>	12.88 ppm
<i>Limit Of Quantification</i>	42.95 ppm

3. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Tabel L.15 Data Uji *Limit of detection* dan *Limit of quantification* Metode Spektrofotometri Serapan Atom

<i>Slope</i>	0.18453
$\sum (y-y_i)^2/n-2$	9.1974 x 10 ⁻⁴
S(y/x)	3.032 x 10 ⁻²
<i>Limit Of Detection</i>	0.493 ppm
<i>Limit Of Quantification</i>	1.643 ppm

F. Contoh Perhitungan

1. Perhitungan Standarisasi Larutan Standar Sekunder KMnO_4

Diketahui: $V \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 10 \text{ ml}$

$$N \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 0,05$$

$$V \text{ rata-rata } \text{KMnO}_4 = 4,9 \text{ ml}$$

Ditanya : $N \text{KMnO}_4 = ?$

$$\text{Jawab : } V \text{KMnO}_4 \times N \text{KMnO}_4 = V \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times N \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$$

$$4,9 \text{ ml} \times N \text{KMnO}_4 = 10 \text{ ml} \times 0,05 \text{ N}$$

$$N \text{KMnO}_4 = 0,5 \text{ mL} / 4,9 \text{ mL} = 0,102$$

2. Perhitungan Standarisasi Larutan Standar Sekunder Na_2EDTA

Diketahui: $V \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 10 \text{ ml}$

$$M \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,05$$

$$V \text{ rata-rata } \text{Na}_2\text{EDTA} = 9,7 \text{ ml}$$

Ditanya : $M \text{Na}_2\text{EDTA} = ?$

$$\text{Jawab : } V \text{Na}_2\text{EDTA} \times M \text{Na}_2\text{EDTA} = V \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \times M \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$$

$$9,7 \text{ ml} \times M \text{Na}_2\text{EDTA} = 10 \text{ ml} \times 0,05 \text{ M}$$

$$M \text{Na}_2\text{EDTA} = (0,5 \text{ mL}) / (9,7 \text{ mL}) = 0,0515$$

3. Perhitungan Kadar Kalsium dalam Sampel Metode Permanganometri

Diketahui: $V \text{KMnO}_4 = 0,8 \text{ mL}$

$$N \text{KMnO}_4 = 0,102$$

$$\text{Be Kalsium} = 20$$

$$V \text{ Sampel} = 20 \text{ mL}$$

$$V \text{ Larutan abu} = 50 \text{ mL}$$

$$\text{Berat sampel} = 2,4502 \text{ gram}$$

Ditanya: Kadar kalsium dalam sampel= ?

$$\begin{aligned}\text{Jawab: Kalsium (mg/L)} &= \frac{VKMnO4 \times NKMnO4 \times Be Ca \times 1000}{V \text{ sampel yang digunakan}} \\ &= \frac{0.8 \times 0.102 \times 20 \times 1000}{20} = 81,6 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kalsium (mg/Kg)} &= \frac{V \text{ larutan abu}}{\text{Berat sampel yang diabukan}} \times \text{Kadar terbaca} \\ &= \frac{50}{2,4502} \times 81,6 = 1.665, 17 \text{ mg/Kg}\end{aligned}$$

4. Perhitungan Kadar Kalsium dalam Sampel Metode Kompleksometri

Diketahui: V Na₂EDTA = 0,55 mL

M Na₂EDTA = 0,0515

Berat atom Kalsium = 40.08

V Sampel = 20 mL

V Larutan abu = 50 mL

Berat sampel = 2,4502 gram

Ditanya: Kadar kalsium dalam sampel= ?

$$\begin{aligned}\text{Jawab: Kalsium (mg/L)} &= \frac{VNa2EDTA \times M Na2eDTA \times B40.08 \times 1000}{V \text{ sampel yang digunakan}} \\ &= \frac{0.55 \times 0.0515 \times 40.08 \times 1000}{20} = 56,76 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kalsium (mg/Kg)} &= \frac{V \text{ larutan abu}}{\text{Berat sampel yang diabukan}} \times \text{Kadar terbaca} \\ &= \frac{50}{2,4502} \times 56,76 = 1.158, 34 \text{ mg/Kg}\end{aligned}$$

5. Perhitungan Kadar Kalsium dalam Sampel Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Diketahui: Persamaan regresi = y = 0.18453x + 0.043725

Absorbansi = 1,1285

V Larutan abu = 50 mL

Berat sampel = 2,4502 gram

Faktor pengenceran = 10

Ditanya: Kadar kalsium dalam sampel= ?

Jawab:

Kalsium (mg/L) = substitusi absorbansi ke nilai y dari persamaan $y =$

$$0.18453x + 0.043725$$

$$= (1,1285 - 0.043725) / 0.18453$$

$$= 5,8786 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kalsium (mg/Kg)} = \frac{V \text{ larutan abu}}{\text{Berat sampel yang diabukan}} \times \text{Kadar terbaca (mg/L)}$$

$$= \frac{50}{2,4502} \times 5,8786 \times 10 = 1199,61 \text{ mg/Kg}$$

6. Perhitungan Uji presisi Metode Kompleksometri

Diketahui :

Tabel L.16 Data Hasil Penetapan Kadar Kalsium Uji Presisi

Ulangan	Kadar	$(x - \bar{x})^2$
1	1158.34	788.49
2	1116.22	197.16
3	1158.34	788.49
4	1116.22	197.16
5	1116.22	197.16
6	1116.22	197.16
Jumlah	6781.56	2365.62
Rata-rata	1130.26	394.27

Ditanya : CV Analisis= ?

Jawab :

$$SD = \sqrt{\sum \frac{(x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(2365.62)^2}{5}} = 21,75$$

$$CV = \frac{SD}{\text{Rata-rata}} \times 100 = \frac{21,75}{1130,26} \times 100 = 1,92\%$$

7. Perhitungan Uji Akurasi Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Diketahui : Konsentrasi Blanko = 4,7108 mg/L

Konsentrasi + Standar 5 ppm = 9,9202 mg/L

Ditanya: % *recovery* = ?

$$\begin{aligned} \text{Jawab : \% recovery} &= \frac{C_2 - C_1}{S} \times 100 = \frac{9,9202 - 4,7108}{5} \times 100 \\ &= 104,19\% \end{aligned}$$

8. Perhitungan *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantification* metode spektrofotometri serapan atom

Diketahui :

Persamaan regresi = $y = 0.18453x + 0.043725$

Slope = 0.18453

Tabel L.17 Perhitungan *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantification* metode spektrofotometri serapan atom

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	yi	(y-yi)	(y-yi) ²
0	0.0135	0.0437	-0.0302	9.1351 x 10 ⁻⁴
1	0.2596	0.2283	0.0313	9.8250 x 10 ⁻⁴
2	0.4303	0.4128	0.0175	3.0677 x 10 ⁻⁴
5	0.9564	0.9664	-0.0100	1 x 10 ⁻⁴
10	1.9104	1.8890	0.0214	4.5689 x 10 ⁻⁴
Jumlah				2.7592 x 10 ⁻³

Ditanya : LOD dan LOQ?

$$\text{Jawab : } S_{(y/x)} = \sqrt{\frac{\sum (y-y_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{2.7592 \times 10^{-3}}{3}} = 3,0327 \times 10^{-2}$$

$$\text{LOD} = (3 \times 3,0327 \times 10^{-2}) / 0.18453 = 0,493$$

$$\text{LOQ} = (10 \times 3,0327 \times 10^{-2}) / 0.18453 = 1,643$$

LAMPIRAN 5
HASIL UJI STATISTIK

1. Hasil Uji Normalitas Data Penetapan Kadar Dengan Metode Permanganometri

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Kalsium
N		9
Normal Parameters(a,b)	Mean	1660.9722
	Std. Deviation	77.74120
Most Extreme Differences	Absolute	.188
	Positive	.179
	Negative	-.188
Kolmogorov-Smirnov Z		.565
Asymp. Sig. (2-tailed)		.907

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

2. Hasil Uji Normalitas Data Penetapan Kadar Dengan Metode Kompleksometri

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Kalsium
N		9
Normal Parameters(a,b)	Mean	1230.2344
	Std. Deviation	66.16388
Most Extreme Differences	Absolute	.334
	Positive	.224
	Negative	-.334
Kolmogorov-Smirnov Z		1.002
Asymp. Sig. (2-tailed)		.268

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

3. Hasil Uji Normalitas Data Penetapan Kadar Dengan Spektrofotometri Serapan Atom

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Kalsium
N		9
Normal Parameters(a,b)	Mean	1248.7489
	Std. Deviation	20.41979
Most Extreme Differences	Absolute	.112
	Positive	.112
	Negative	-.106
Kolmogorov-Smirnov Z		.336
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000

- a Test distribution is Normal.
b Calculated from data.

4. Hasil Uji Beda *One Way Anova* Data Penetapan Kadar Kalsium
ANOVA

Kadar Kalsium

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1067417.683	2	533708.842	147.728	.000
Within Groups	86706.563	24	3612.773		
Total	1154124.247	26			

5. Hasil Uji *Post Hoc Least Significant Different* Data Penetapan Kadar Kalsium

Multiple Comparisons

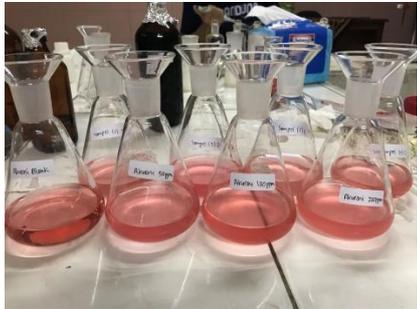
Dependent Variable: Kadar Kalsium

(I) Metode	(J) Metode	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Metode 1	Metode 2	430.73778(*)	28.33441	.000	372.2584	489.2171
	Metode 3	412.22333(*)	28.33441	.000	353.7440	470.7027
Metode 2	Metode 1	-430.73778(*)	28.33441	.000	-489.2171	-372.2584
	Metode 3	-18.51444	28.33441	.520	-76.9938	39.9649
Metode 3	Metode 1	-412.22333(*)	28.33441	.000	-470.7027	-353.7440
	Metode 2	18.51444	28.33441	.520	-39.9649	76.9938

Keterangan : Metode 1 (Permanganometri, Metode 2 (Kompleksometri), Metode 3 (Spektrofotometri Serapan Atom)

**LAMPIRAN 6
LOGBOOK**

HARI/ TANGGAL	KEGIATAN	GAMBAR
Kamis, 18 April 2019	Pemilihan sampel sesuai penelitian kriteria	
Rabu, 24; Selasa, 30 April 2019; Rabu, 8 Mei 2019; Jumat 17 Mei, 2019	Destruksi sampel	

<p>Rabu, 24 April; Selasa 30 April 2019; Rabu, 8 Mei 2019; Jumat 17 Mei, 2019</p>	<p>Mempersiapkan reagen kompleksometri dan permanganometri serta preparasi sampel metode permanganometri</p>	 
<p>Kamis, 25 April 2019 sampai Minggu, 28 April 2019</p>	<p>Optimasi cara kerja dan uji pendahuluan metode permanganometri</p>	 

Kamis, 25
April 2019
sampai
Minggu, 28
April 2019

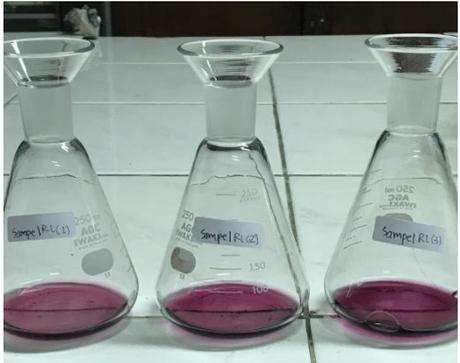
Optimasi cara kerja
dan uji pendahuluan
metode
kompleksometri

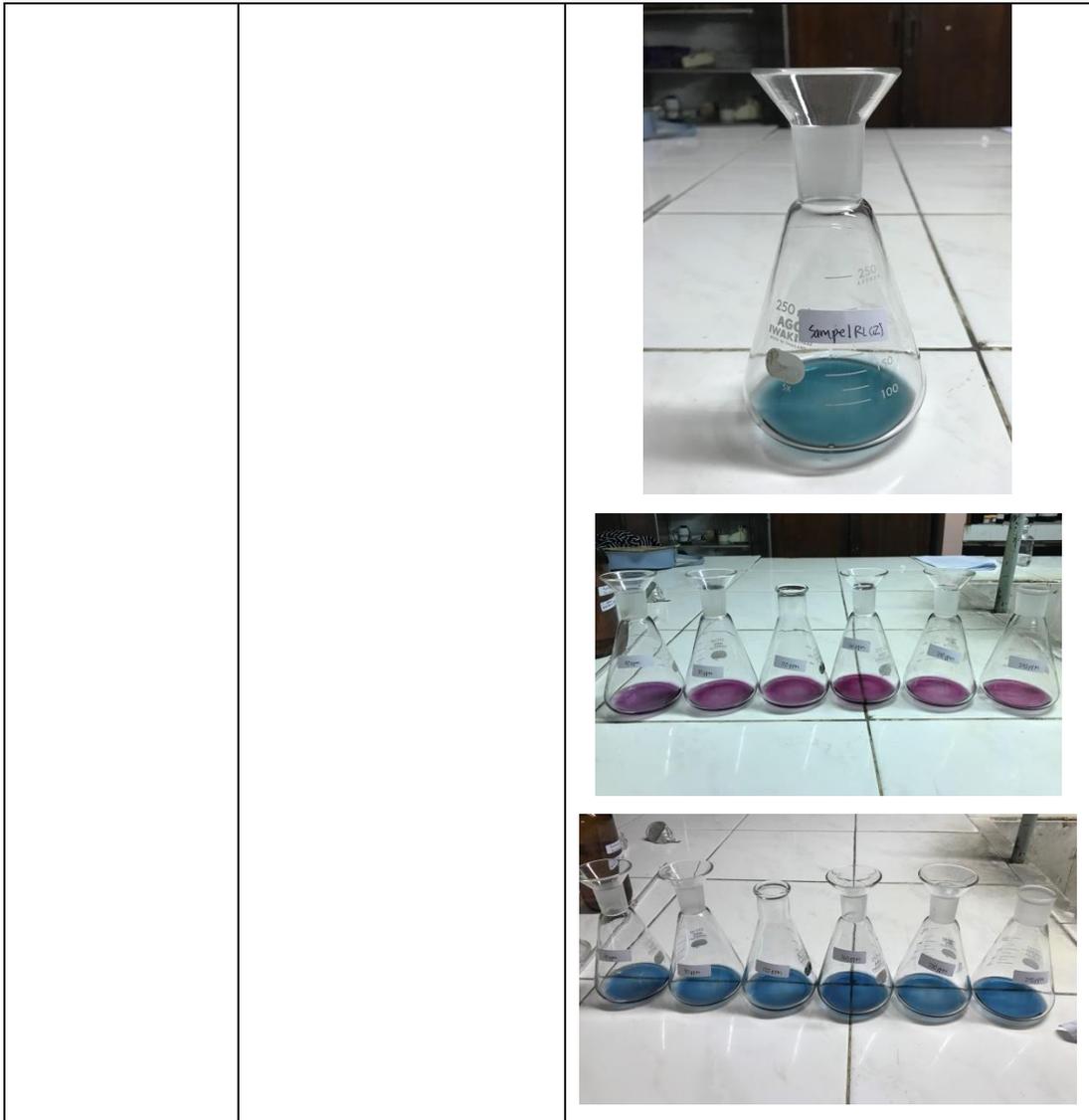


Rabu, 1 Mei 2019; Kamis 9 Mei 2019; Sabtu 18 Mei, 2019

Penetapan kadar, nilai akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ dengan metode permanganometri

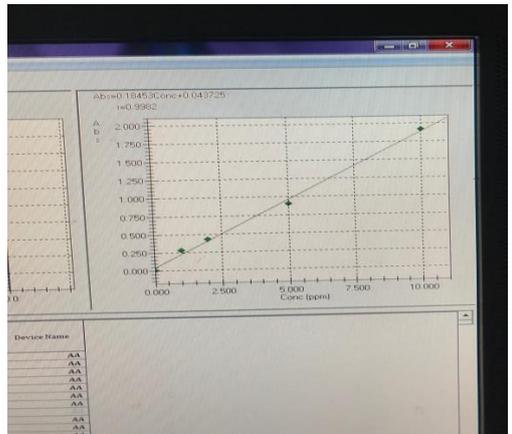
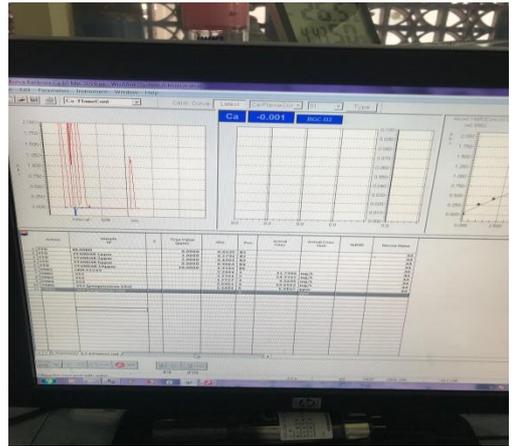


		 
<p>Rabu, 1 Mei 2019; Kamis 9 Mei 2019; Sabtu, 18 Mei 2019</p>	<p>Penetapan kadar, nilai akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ dengan metode kompleksometri</p>	 



Kamis, 2 Mei 2019; Jumat 10 Mei 2019; Jumat, 17 Mei 2019

Penetapan kadar, nilai akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ dengan metode spektrofotometri serapan atom



LAMPIRAN 7 KARTU BIMBINGAN PROPOSAL SKRIPSI



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
PROGRAM STUDI DIPLOMA 4 ALIH JENJANG
 Jl. Karangmenjangan No. 18 A – Tlp. (031)5020718
 Surabaya



KARTU BIMBINGAN PROPOSAL SKRIPSI

NAMA : I Wayan Bagus Adigunawan
NIM : 127834118077
JUDUL SKRIPSI : Penetapan Kadar Kalsium Dalam Ikan Icn. (Stalsphurus sp) Menggunakan Metode Permayonometri, Kompleksometri, dan SSA.

NO	TANGGAL	POKOK BIMBINGAN	SARAN	PARAF
1	12-12-2018	Topik	Perdalamng modifikasi part atau pembuatan gula cair	ag
2	24-01-2019	TOPIK	PERBEDAAN METODEDE U/ CALSIUM	ju
3	17-01-2019	BAB 1	Revisi	ag
4	25-01-2019	BAB 1	REVISI LB, TU, TK & RUMUKAN JANGAN BANYAK? TEORI ATAU PENELITIAN SEBLMNYA	ju
5	06-02-2019	Bab. 3	REVISI, lanjut bab 4	ju
6	30-01-2019	Bab 3	kerangka konsep, variabel, penulisan	ag
7	14-02-2019	BAB 3, 4	bab 3 ok, bab 4 revisi terutama pd penulisan	ju
8	18-02-2019	Bab 1, 2, 3	bab 2 revisi lanjut 4	ju
9	13-2-2019	Daftar Isi, Bab 1	Revisi	ag
10	10-2-2019	PROPOSAL	ACC	ag
10	20-2-2019	Bab 1, 2, 3 & 4	OK! SIAP UJIAN	ju

CATATAN : Minimal Bimbingan Penulisan Proposal Skripsi dilakukan sebanyak 10 (sepuluh) kali untuk 2 (dua) Pembimbing

Setuju dan Siap Diujikan

Tgl. Persetujuan : 19-2-2019

Dosen Pembimbing I

Anna Ruspitasari, S.T.M.Si
 NIP. 19800325 200501 2 003

Tgl. Persetujuan : 20-2-2019

Dosen Pembimbing II

Indah Lestari, S.E.S.Si, M.Kes.
 NIP. 19580317 198603 2 002

Surabaya, 20-2-2019
 Mengetahui
 KETUA JURUSAN



LAMPIRAN 8 KARTU BIMBINGAN SKRIPSI



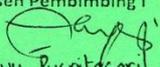
KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
PROGRAM STUDI DIPLOMA 4 ALIH JENJANG
 Jl. Karangmenjangan No. 18 A – Tlp. (031)5020718
 Surabaya



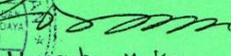
**KARTU BIMBINGAN
PENULISAN SKRIPSI**

NAMA : Wayan Bagus Adigunawan
 NIM : P27834118077
 JUDUL SKRIPSI : Kestapan Kadar Kalsium Dalam Ukan Ker. (Stekphorus sp.) Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri, dan AAS

NO	TANGGAL	POKOK BIMBINGAN	SARAN	PARAF
1.	27-5-2019	Bab 5	Lanjutkan Bab 6.2. bahas masing2 metode & perbandingan metode	<i>ag</i>
2	28-5-2019	Bab 5	Bab 5 OK. Lanjutkan Bab 6	<i>sumy</i>
3	31-06-2019	Bab 6 & 7	Revisi	<i>ag</i>
4	29-05-2019	Bab 6 & 7	Revisi, Hilangkan Penjelasan Teknis.	<i>ju</i>
5	14-6-2019	SKRIPSI	Revisi	<i>ag</i>
6	04-06-2019	Abstrak	Tambahkan Tempat Penelitian	<i>ju</i>
7	07-06-2019	Bab 1 - Lampiran	OK.	<i>ju</i>
8	10-06-2019	SKRIPSI ALL	SIAP MAJU UJIAN	<i>sumy</i>
9	10-06-2019	SKRIPSI	ACC	<i>ag</i>

CATATAN : Minimal Bimbingan Penulisan Skripsi dilakukan sebanyak 10 (sepuluh) kali untuk 2 (dua) Pembimbing Setuju dan Siap Diujikan.
 Tgl. Persetujuan : 10-6-2019
 Dosen Pembimbing I

Ayu Puspitasari, S.T., M.Si
 NIP. 198003252005012003
 Tgl. Persetujuan : 10 Juni 2019
 Dosen Pembimbing II

Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes
 NIP. 195803171986032002

Surabaya, 10-6-2019
 Mengetahui,
 KETUA JURUSAN

Drs. Edy Haryanto, M. Kes
 NIP. 196408121983021002



LAMPIRAN 9
BUKTI REVISI PROPOSAL SKRIPSI

<p>NAMA : I Wayan Bagus Adigunawan NIM : P27834118077 JUDUL : Penetapan Kadar Kalsium Dalam Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri Dan Spektrofotometri Serapan Atom</p>		
DOSEN PENGUJI	TOPIK REVISI	TANDA TANGAN
Ayu Puspitasari, S.T., M.Si	Tidak ada revisi	
Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes	<ol style="list-style-type: none"> 1. Memperbaiki daftar isi 2. Memperjelas batasan masalah 3. Memperbaiki prosedur kerja metode titrasi dan kerangka operasionalnya 	
Suhariyadi, S.Pd, M.Kes	<ol style="list-style-type: none"> 1. Memperbaiki penulisan - penulisan rumus molekul kimia 2. Memperjelas dan memperbaiki cara kerja metode titrasi permanganometri 3. Mencantumkan konsentrasi reagen yang digunakan 	

LAMPIRAN 10
BUKTI REVISI SKRIPSI

NAMA : I Wayan Bagus Adigunawan
 NIM : P27834118077
 JUDUL : Penetapan Kadar Kalsium Dalam Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)
 Menggunakan Metode Permanganometri, Kompleksometri Dan
 Spektrofotometri Serapan Atom

DOSEN PENGUJI	TOPIK REVISI	TANDA TANGAN
Ayu Puspitasari, S.T., M.Si	1. Melengkapi perhitungan metode spektrofotometri serapan atom	
Indah Lestari, S.E., S.Si., M.Kes	1. Melengkapi data-data penelitian	
Suhariyadi, S.Pd, M.Kes	1. Memperjelas jenis reagen standar yang digunakan 2. Satuan diseragamkan menjadi mg/Kg 3. Melengkapi perhitungan	