

Validasi Metode Uji Fosfat Secara Asam Askorbat Pada Bahan Pakan Ternak Menggunakan *Microplate* Spektrofotometer Uv-Vis

Ikhwan Hadianto¹, Siska Devi Kusumawati², Adella Alayda Pracoyo³, Rina Ispitasari^{4*}

¹ Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, r.ispitasisari@ugm.ac.id

² Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, siskadevi@mail.ugm.ac.id

³ Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, rr.adell.alayda@mail.ugm.ac.id

⁴ Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, r_ipsoitasari@mail.ugm.ac.id

Submisi: 11 Agustus 2023; Penerimaan: 11 Februari 2024

ABSTRAK

Pengujian kadar fosfat dalam bahan pakan merupakan kontrol kualitas yang penting dalam penyusunan ransum hewan ternak. Telah dilakukan pengujian kadar fosfat pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit menggunakan microplate Spektrofotometer UV-Vis dan penentuan hasil pengukuran fosfat pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit dengan parameter validasi. Destruksi sampel dilakukan pada microwave digester dengan larutan asam nitrat (HNO₃) 65% dan asam klorida (HCl) 37%. Pengukuran serapan ekstrak sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum 895 nm. Parameter validasi metode yang ditentukan hasilnya yaitu nilai linieritas (koefisien korelasi pengukuran), limit of detection (LoD), limit of quantitation (LoQ), akurasi, dan presisi. Hasil penelitian menunjukkan kadar air dan fosfat pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit berturut-turut yaitu 9,92% dan 6,88% serta 0,77% bahan kering (BK) dan 0,49 % BK. Nilai linearitas yang didapatkan yaitu 0,999. Nilai LoD dan LoQ berturut-turut sebesar 0,49 mg/L dan 1,49 mg/L. Nilai presisi metode dinyatakan dalam koefisien variansi Horwitz pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit adalah 7,93% dan 8,42% dan akurasi penelitian sebagai persen perolehan kembali pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit berturut-turut adalah 85,46-89,49% dan 92,05-93,88%. Hasil ini menunjukkan bahwa pengujian kadar fosfat dengan metode asam askorbat menggunakan microplate spektrofotometer UV-Visibel untuk analisa fosfat pada bahan pakan hewan ternak telah memenuhi persyaratan validasi dan dapat digunakan untuk analisa rutin.

Kata kunci: Bungkil kedelai; Bungkil inti sawit; Fosfat; Microplate spektrofotometer UV-Vis;

LATAR BELAKANG

Ternak membutuhkan ransum pakan dan nutrisi yang seimbang untuk pertumbuhan dan perkembangannya dapat optimal. Bungkil kedelai serta bungkil inti sawit adalah contoh bahan baku dalam pembuatan ransum ternak. Kedua bahan ini mengandung mineral yang merupakan salah satu komponen anorganik dari bahan

pakan. Menurut Utomo *et al.* (2021), mineral dibutuhkan dalam jumlah relatif sedikit dan terdapat batasan maksimum dan minimumnya.

Mineral fosfor (P) merupakan makro mineral yang berperan penting pada pertumbuhan, perkembangan, serta produksi ternak (NRC, 2007). Fosfor (P) memiliki peran juga sebagai regulator

pada metabolisme hewan. Ternak tidak dapat mensintesis mineral fosfor sehingga asupan mineral berasal dari pakan yang diberikan pada hewan ternak. Defisiensi P menyebabkan terjadinya gangguan reproduksi ternak seperti anestrus, konsepsi rendah, calving interval panjang, kematangan seksual tertunda, kematian embrio, hingga kematian pada pedet yang lahir (Chaudhary and Singh, 2004; Ceylan *et al.*, 2008). Defisiensi tersebut menyebabkan gangguan proses metabolisme pada hewan ternak sehingga dapat mengakibatkan tingkat produktivitas dan reproduksi hewan ternak rendah. Sebaliknya, kadar P yang berlebihan akan mengakibatkan menganggu kinerja produksi dan reproduksi hewan ternak (Chaudhary and Singh, 2004).

Preparasi sampel bungkil kedelai dan bungkil inti sawit pada penelitian ini dilakukan dengan cara destruksi basah dengan *microwave* (sistem gelombang mikro), lalu pada pengukuran kadar fosfat menggunakan *microplate* spektrofotometer UV-Vis. Keunggulan dari metode ini yaitu proses destruksi lebih cepat, polusi saat destruksi berkurang, penguapan analit berkurang, lebih sedikit dalam pemakaian asam, dan mudah dalam penggunaan (Zhong *et al.*, 2016).

Validasi merupakan proses yang dilakukan untuk membuktikan metode bisa digunakan dengan beberapa kriteria tertentu (Kazusaki *et al.*, 2012). Menurut Kartika (2021), validasi metode yaitu sebuah tahapan pada percobaan di laboratorium dengan tujuan membuktikan karakteristik proses metode analisis sudah terpenuhi syarat yang telah ditetapkan sebelumnya. Validasi metode termasuk langkah pokok dalam kontrol kualitas analisis kuantitatif (Abarca *et al.*, 2001). Validasi ini bertujuan untuk memastikan suatu metode analisis secara ilmiah dapat

diaplikasikan untuk pengujian di laboratorium sehingga suatu data yang didapatkan bernilai valid (Hanjani, 2013). Metode yang umum dilakukan untuk analisis fosfor menggunakan metode baku SNI 06-6989-31- 2005. Di Indonesia, metode baku SNI tersebut mendeskripsikan prosedur analisis uji kadar fosfat pada sampel air dan air limbah. Beberapa penelitian menggunakan metode ini untuk penentuan kadar fosfor untuk beberapa macam sampel. Emawati *et al.* (2017) menganalisis kadar fosfor pada dua varietas kubis (*Brassica oleracea*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode asam askorbat. Analisis kadar fosfat pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit sebagai bahan ransum pakan ternak menggunakan metode asam askorbat menggunakan *microplate* spektrofotometer UV-Vis belum tersedia data validasinya. Metode analisis fosfor pada penelitian ini termasuk pengembangan dari metode baku SNI 06-6989-31- 2005 (BSN, 2005), maka perlu divalidasi. Hal ini sesuai dengan peraturan ISO/IEC 17025 (2005), bahwa salah satu metode yang harus divalidasi yaitu metode baku yang sedang dikembangkan. Penelitian ini dilakukan validasi pada metode analisis uji kadar fosfat dengan sampel bungkil kedelai dan bungkil inti sawit menggunakan *microplate* spektrofotometer UV-Vis. Acuan parameter validasi yang digunakan adalah linearitas, batas deteksi, batas kuantifikasi, presisi dan akurasi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik Mettler-Toledo (GmbH, Greifensee, Swiss), peralatan gelas meliputi labu ukur, erlenmeyer, pipet volumetrik, mikropipet

(eppendorf), *close microwave digestion* tipe MARS 6 *iWave* (CEM), tabung teflon polytetrafluoroethylene (PTFE) vessel, Vortex (DLab), Tube Mill (IKA), Oven (Memmert) dan Multiskan Sky Microplate spektrofotometer (ThermoFisher). Sampel yang digunakan adalah bungkil kedelai dan bungkil inti sawit, sampel diperoleh dari pabrik pakan ternak PT. Peksi Gunaharja, Sleman. Kedua jenis sampel ini dihaluskan menjadi tepung. Peralatan gelas disikat dan dicuci menggunakan sabun. Semua peralatan gelas selanjutnya dibilas menggunakan akuabides, lalu dikeringkan. Tabung teflon vessel dbersihkan menggunakan asam nitrat (HNO_3) 50% selama 10 menit pada suhu 175°C (Adams *et al.*, 2010).

Bahan kimia yang digunakan adalah Akubiades (Milli-Q 7003), asam nitrat (HNO_3) 65% *for analysis* EMSURE (Merck), hidrogen peroksid (H_2O_2) 35% (Merck), ammonium molibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Merck), *L-ascorbic acid* (SRL), kalium antimonil tetrat ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_{6.1/2}\text{H}_2\text{O}$) (Merck) serta larutan standar Fosfor 1000 mg/L (Merck-SRM).

Penentuan Kadar Air dan Fosfor dalam Sampel

Penentuan kadar air

Prinsip penentuan kadar air yaitu menguapkan kadar air pada sampel dengan jalan pemanasan, kemudian sampel ditimbang hingga berat konstan. Presentase kadar air berdasarkan berat basah (W_b) dihitung dengan menggunakan rumus :

Keterangan :

A = berat botol timbang (g)

B = berat sampel (g)

C = berat akhir (botol timbang + sampel)

(g)

(AOAC, 2012)

Preparasi sampel

Sampel bungkil kedelai dan bungkil inti sawit masing-masing ditimbang sebesar 0,5 g. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung teflon PTFE vessel, ditambahkan HNO_3 65% sebanyak 5 mL dan H_2O_2 sebanyak 2 mL, dan ditutup rapat.

Destruksi basah menggunakan *close microwave digestion*

Sampel yang telah dimasukkan dalam tabung teflon PTFE vessel, didestruksi menggunakan *microwave digestion* berdasarkan metode standar AOAC 999.10-2012 (AOAC, 2012). Pengaturan program *microwave digestion* terdiri dari 4 tahap yaitu: 1) Daya 300 Watt selama 3 menit pada suhu 30°C; 2) Daya 600 Watt selama 15 menit pada suhu 150°C; 3) Daya 500 Watt selama 22 menit pada suhu 180°C; 4) Daya 300 Watt selama 15 menit pada suhu 200°C. Setelah proses destruksi selesai, ekstrak sampel didinginkan dan diencerkan dengan akuabides pada labu ukur 25 mL sampai tanda batas. Preparasi blanko juga dilakukan dengan prosedur yang sama tanpa penambahan sampel (HNO_3 65% sebanyak 5 mL dan H_2O_2 sebanyak 2 mL).

Pembuatan pereaksi P pekat

Sebanyak 12 gram $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 100 mL air bebas ion, lalu perlahan-lahan ditambahkan 140 mL H_2SO_4 pekat dan 0,227 gram $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ dijadikan 1 L dengan air bebas ion. Larutan dihomogenkan dan ditempatkan dalam botol kimia gelap

Pembuatan pereaksi pewarna P

Sebanyak 1,06 gram asam askorbat ditimbang lalu dipindahkan ke labu ukur 100 mL. Sebanyak 10 mL Pereaksi P pekat ditambahkan lalu

diencerkan dengan akuabides sampai tanda batas dan dihomogenkan.

Validasi Metode Uji linearitas

Linearitas ditentukan dengan membuat larutan standar fosfor pada 7 konsentrasi berbeda, yaitu 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L, 10 mg/L dan 12 mg/L. Tahap awal pembuatan larutan standar fosfor yaitu dibuat larutan induk fosfor 100 mg/L dengan cara larutan standar fosfor 1000 mg/L diencerkan sebanyak 5 ml kedalam labu ukur 50 mL, lalu diencerkan menggunakan akuabides sampai tanda batas. Absorbansi dibaca dengan *microplate* spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 895 nm, lalu nilai absorbansinya dicatat. Linieritas yang baik adalah r lebih dari 0,99 (AOAC, 2012).

Penentuan *limit of detection* (LoD) dan *limit of quantitation* (LoQ)

Penentuan limit deteksi (LoD) dan limit kuantisasi (LoQ) dilakukan dengan perhitungan secara statistik melalui regresi linier dari kurva kalibrasi deret larutan standar. Larutan standar kerja dengan konsentrasi 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L, 10 mg/L dan 12 mg/L fosfor dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi pewarna P sebanyak 9 mL lalu dihomogenkan. Didiamkan selama 20 menit, absorbansinya diukur dengan *microplate* spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 895 nm. Setelah diukur absorbansinya kemudian dihitung nilai LoD dan LoQ pada rumus berikut:

$$\text{LoD} = \frac{3,3 \times SB}{\text{slope } (b)}$$

$$\text{LoQ} = \frac{10 \times SB}{\text{slope } (b)}$$

(Squadrone *et al.*, 2010)

Presisi

Sampel bungkil kedelai dan bungkil inti sawit dipipet sebanyak 1 mL ke tabung reaksi. Masing-masing ditambahkan 9 mL pereaksi pembangkit warna ke setiap tabung yang telah berisi sampel, lalu dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya didiamkan 20 menit, lalu diukur dengan dengan *microplate* spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 895 nm. Menurut Khasanah dan Sunarto (2018), pengulangan analisa dilakukan sebanyak 7 kali pengulangan setiap sampelnya. Lalu dihitung hasil pengujian presisi dengan rumus :

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

$$\% \text{ CV} = \frac{SD}{x} \times 100$$

$$\% \text{ CV Horwitz} = (2^{1-0,5 \log C})$$

SD = Standard Deviasi
konsentrasi sampel

x = Rata-rata konsentrasi
ulangan pengujian

n = jumlah pengulangan uji

C = Konsentrasi rata-rata dari
7 kali pengujian

Akurasi

Akurasi dilakukan dengan menambahkan spike pada sampel. Sampel yang telah diketahui konsentrasi, ditambahkan larutan standar fosfor dengan konsentrasi 800 mg/mL sebanyak 0,05 mL, sehingga konsentrasi akhir larutan standar yang ditambahkan pada sampel sebesar 8 mg/L. Jumlah pengulangan untuk sampel tanpa spike sebanyak 3 kali ulangan dan untuk sampel dengan spike sebanyak 3 kali ulangan. Akurasi diukur dalam nilai persen perolehan kembali (% recovery). Persen recovery dihitung dengan rumus berikut :

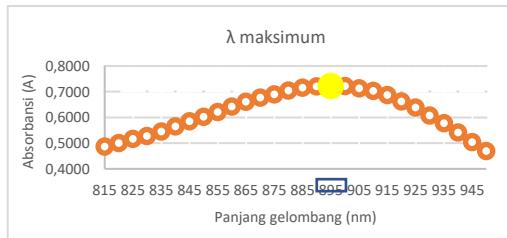
$$\% R = \frac{c_2 - c_1}{s} \times 100$$

R = Perolehan kembali (%)
 Recovery
 S = Kadar analit yang ditambahkan pada sampel
 c₁ = Konsentrasi sampel
 c₂ = Konsentrasi campuran sampel dan analit

Hasil Dan Pembahasan

Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memperoleh angka absorbansitas yang memiliki sensitivitas pengukuran tinggi. Panjang gelombang suatu senyawa akan berbeda jika digunakan pada alat dan kondisi yang berbeda. Pada kondisi optimal, intensitas warna biru yang terbentuk dari kompleks fosfomolibdat berbanding lurus dengan jumlah fosfat dalam suatu larutan sampel (Shyla *et al.*, 2012; Pradhan and Pokhrel, 2013). Penentuan panjang gelombang pada penelitian ini menggunakan larutan standar 8 mg/L sebanyak 1 mL dan ditambahkan larutan perekaksi pewarna P sebanyak 9 mL, divortex lalu ditunggu 20 menit. Spektrum absorbansi ditentukan pada daerah panjang gelombang 750-950 dengan kenaikan 5 nm. Hasil pengukuran penentuan panjang gelombang maksimum ditunjukkan pada Gambar 1. Nilai absorbansi maksimum tercapai pada panjang gelombang 895 nm. Panjang gelombang maksimum 895 nm dapat dipakai untuk pengukuran selanjutnya.



Gambar 1. Panjang gelombang maksimum

Kadar air dan Kadar fosfor dalam sampel

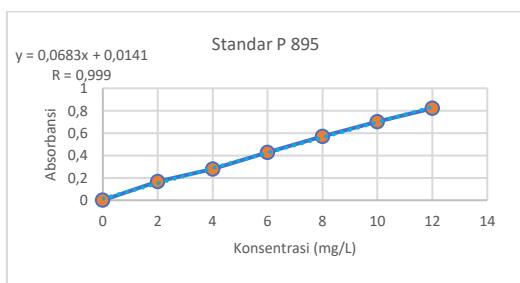
Kadar air pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit yang diperoleh pada penelitian ini masing-masing 9,92% dan 6,68%, sedangkan kadar fosfor yang diperoleh masing-masing sebesar 0,77% dan 0,49%. Kadar air dan fosfor yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan kadar sebenarnya pada masing-masing sampel yang telah ditetapkan. Kadar air dan fosfor pada bungkil kedelai sesuai dengan SNI 01-4227-1996 (BSN, 1996) yaitu kadar air maksimum 12% dan fosfor 0,5-0,8%. Sedangkan kadar air dan fosfor pada bungkil inti sawit menurut SNI BIS 7856:2017 (BSN, 2017) yaitu kadar air maksimum 12% dan fosfor lebih kurang 0,59%.

Uji Linieritas

Uji linieritas menunjukkan keterkaitan antara konsentrasi larutan pada sampel uji dan absorbansi larutan standar. Linearitas dari metode kurva kalibrasi akan menghasilkan nilai koefisien korelasi (*r*). Nilai *r* ini menunjukkan hubungan diantara larutan seri standar fosfat dan absorbansi. Linieritas didapatkan dengan menempatkan absorbansi terukur dengan konsentrasi larutan seri standar (Panggabean *et al.*, 2018).

Tabel 1. Kurva kalibrasi standar fosfat

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
0	0,0000
2	0,1665
4	0,2800
6	0,4265
8	0,5720
10	0,7020
12	0,8210



Gambar 2. Kurva standar fosfat

Berdasarkan tabel 1 dan gambar 2 dalam penentuan parameter linieritas untuk menentukan regresi standar kurva kalibrasi dapat diperoleh nilai koefisien korelasi. Hasil yang didapatkan kurva kalibrasi dalam penelitian ini diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,99, hasil tersebut menunjukkan adanya hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi yang dapat diterima. Hal ini didukung menurut penjaminan mutu SNI 06-6989.31-2005 (BSN, 2005) yang menyatakan koefisien korelasi yang dapat diterima yaitu $\geq 0,97$. Persamaan linier yang diperoleh berdasarkan hasil pengujian pada gambar (2) didapat $y=0,0683x+0,0141$, sehingga setelah mendapatkan persamaan linier ini dapat menghitung konsentrasi tiap sampel. Pada penelitian ini diperoleh data larutan sampel dengan nilai absorbansi mengalami peningkatan sejalan dengan meningkatnya konsentrasi, seperti pada tabel 1 dimana pada konsentrasi 2% memperoleh hasil absorbansi 0,1665 dan pada konsentrasi 12% diperoleh nilai absorbansi 0,7293.

Presisi

Pengukuran presisi dilakukan untuk memperlihatkan adanya kesamaan diantara hasil pengukuran sampel yang sudah mengalami proses homogenisasi di keadaan normal atau dengan pemberian perlakuan yang sama. Berikut data hasil pengukuran presisi fosfat dalam sampel bungkil kedelai dan bungkil inti sawit, ditampilkan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Uji presisi pada sampel bungkil kedelai

Pengulangan Sampel Ke-	Absorbansi	Konsentrat (mg/L)
1	0,496	7,0209
2	0,521	7,3946
3	0,500	7,0807
4	0,475	6,7070
5	0,505	7,1555
6	0,514	7,2900
7	0,522	7,4096
Rata-rata Konsentrasi (mg/L)	7,1512	
Simpangan Baku (SD)	0,2465	
%RSD	3,4467	
%CV Horwitz	11,8994	
%2/3 CV Horwitz	7,9329	

Tabel 3. Uji presisi pada sampel bungkil inti sawit

Pengulangan Sampel Ke-	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)
1	0,329	4,5247
2	0,359	4,9731
3	0,364	5,0478
4	0,319	4,3752
5	0,351	4,8535
6	0,366	5,0777
7	0,342	4,7190
Rata-rata Konsentrasi (mg/L)	4,7959	
Simpangan Baku (SD)	0,2690	
%RSD	5,6086	
%CV Horwitz	12,64	
%2/3 CV Horwitz	8,425	

Hasil perhitungan presisi bungkil kedelai dan bungkil inti sawit secara berurutan didapatkan nilai SD sebesar 0,2465 dan 0,2690, nilai %RSD sebesar

3,4467 dan 5,6086, nilai $\%CV$ Horwitz sebesar 7,9329 dan 8,425. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai $\%RSD$ bungkil kedelai dan bungkil inti sawit tidak melebihi nilai $\%2/3 CV$ Horwitz. Pengukuran presisi dikatakan valid apabila nilai $\%RSD \leq 2/3 CV$ Horwitz. Pengujian presisi dapat dinyatakan baik apabila besarnya $\%RSD$ kurang dari atau sama dengan $2/3 CV$ Horwitz (Pangabean *et al.*, 2018). Hasil pengujian fosfat yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai $\%RSD$ lebih kecil dibanding $\%CV$ Horwitz, sehingga dapat disimpulkan pengukuran tersebut menunjukkan hasil presisi yang baik.

Akurasi

Penentuan pengujian nilai akurasi digunakan untuk mengetahui nilai keakuratan dalam analisis metode. Akurasi termasuk satu diantara beberapa parameter dalam pengujian verifikasi metode serta pengendalian mutu. Penentuan hasil uji dievaluasi melalui nilai persen perolehan kembali (recovery) yang merupakan langkah pertama yang harus dilakukan dalam pengujian akurasi. Semakin dekat nilai keberulangan analisis dengan sampel maka analisis yang diuji juga makin akurat (Khan, 1996).

Tabel 4. Data hasil perhitungan akurasi bungkil kedelai

Pengulangan Sampel Ke-	% Recovery	Kisaran Keberterimaan % Recovery	Keterangan
1	85,4685	85-115%	Memenuhi
2	89,4949	85-115%	Memenuhi
3	86,9327	85-115%	Memenuhi
Rata-rata	87,2987		

Tabel 5. Data hasil perhitungan akurasi bungkil inti sawit

Pengulangan Sampel Ke-	% Recovery	Kisaran Keberterimaan % Recovery	Keterangan
1	99,0117	85-115%	Memenuhi
2	92,0571	85-115%	Memenuhi
3	93,3382	85-115%	Memenuhi
Rata-rata		94,8023	

Berdasarkan Tabel 4 hasil $\%recovery$ pada bungkil kedelai dan bungkil sawit berturut-turut sebesar 87,29% dan 94,80%. Hasil perhitungan $\%recovery$ pada penelitian ini menunjukkan bahwa sampel bungkil kedelai dan bungkil inti sawit memenuhi tingkat akurasi sesuai dengan jaminan mutu SNI 06-6989.31-2005 (BSN, 2005). Tuslinah *et al.* (2022) menyatakan bahwa nilai rata-rata $\%recovery$ yang diterima dalam pengukuran analisis direntang 85-115%. Nilai yang didapatkan pengujian ini dinyatakan diterima karena masih masuk kedalam rentang syarat keberterimaan, maka hasil ini menunjukkan nilai akurasi yang baik.

Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantitasi (LoQ)

Penentuan kadar LoD dan LoQ dengan menghitung secara statistika dengan melihat regresi linier dari kurva kalibrasi deret larutan standar. Nilai LoD menunjukkan batas paling kecil dari analit yang mampu dideteksi oleh mikroplate spektrofotometer UV-VIs, sedangkan nilai LoQ merupakan batas terkecil analit yang terkuantifikasi. Penentuan limit deteksi bertujuan untuk menyatakan konsentrasi

terkecil dari suatu analit dalam sampel, sedangkan penentuan limit kualitas berfungsi untuk menyatakan konsentrasi terkecil yang memenuhi kriteria dan dapat diterima di bawah situasi yang sudah sepakati (Harmita, 2004; Miller dan Miller, 2005). Data perhitungan LoD dan LoQ kadar fosfat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji LoD dan LoQ

No	Standar P (mg/L)	Absorbansi
1	2	0,17
2	4	0,28
3	6	0,43
4	8	0,57
5	10	0,70
6	12	0,82
Jumlah		2,97
Standar Deviasi (SD)		0,01
LoD		0,49
LoQ		1,49

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh nilai LoD pada penelitian ini sebesar 0,49 mg/L. Syarat diterimanya nilai LoD yaitu apabila nilai yang didapat lebih besar dari intersepsi yang diperoleh, hal ini didasarkan pada SNI 06-6989.31-2005 (BSN, 2005). Hasil nilai LoD yang diperoleh dapat diterima karena lebih besar sama dengan intersepsi yang didapatkan. Nilai LoQ pada penelitian ini yaitu 1,48 mg/L. Hasil LoD dan LoQ pada penelitian ini memberikan informasi bahwa kadar fosfor dalam sampel mampu terdeteksi jika sampel yang dideteksi mempunyai konsentrasi yang lebih besar dari nilai LoQ, sehingga hasilnya dapat diterima. Konsentrasi sampel yang terdeteksi lebih kecil dari nilai LoQ dapat dipastikan bahwa

nilai tersebut bukanlah murni dari sampel melainkan gangguan saat pengujian, maka nilai yang dihasilkan kurang dipercaya.

Kesimpulan

Metode pengujian fosfat secara asam askorbat pada bungkil kedelai dan bungkil inti sawit menggunakan *microplate* spektrofotometer UV-Vis yang diadaptasi dari metode standar baku SNI 06-6989-31- 2005 untuk air dan air limbah telah memenuhi persyaratan validasi dan dapat digunakan untuk analisa rutin.

Daftar Pustaka

- Abarca, A., Canfranc, E., Sierra, I., & Marina, M. L. 2001. A validated flame AAS method for determining magnesium in a multivitamin pharmaceutical preparation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25(5–6), 941–945.
- Adams, M. L., Chaudri, A. M., Rousseau, I., & McGrath, P. A. 2014. Practical Evaluation of Microwave and Conventional Wet Digestion Techniques for the Determination of Cd, Cu And Zn in Wheat Grain, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 83 (4), 37–41.
- AOAC. 2012. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (19th ed.). Maryland, MD: AOAC International Press
- Badan Standarisasi Nasional, 2005, SNI 06-6989.31-2005; Air dan Air Limbah-Bagian 31; Cara Uji Kadar Fosfat dengan Spektrofotometer Secara Asam Askorbat.
- Badan Standarisasi Nasional. 1996. SNI 01-4227-1996; Bungkil Kedelai Bahan Baku Pakan

- Badan Standarisasi Nasional. 2017. SNI 7856-2017; SNI Bungkil Inti Sawit
- Ceylan, A., Serin, I., Aksit, H. And Seyrek K. 2008. Concentrations Of Some Elements In Dairy Cows With Reproductive Disorders *Bull Vet Inst Pulawy* 52 : 109-112.
- Chaudhary, S and Singh, A. 2004. Role of Nutrition in Reproduction: A review. *Intas Polivet*, Vol. 5 : 229-234.
- Ernawati, E., Yani, N. S., & Idar. 2017. Analisis Kandungan Fosfor (P) dalam Dua Varietas Kubis (*Brassica oleracea*) di Daerah Lembang Bandung. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* (1):1. 8-14.
- Hanjani, F.N. 2013. Validasi metode analisis unsur logam Pb, Cu, dan Zn produk saus tomat y dari pasar tradisional x daerah surabaya timur dengan ICPS, 2(2), 1–11.
- Kartika, R. 2021. *Verifikasi dan Validasi Metode Uji Kualitas Udara*. Yogyakarta: Penerbit KBM Indonesia.
- Kazusaki, M., S. Ueda, N. Takeuchi, and Y. Ohgami. 2012. Validation of analytical procedures by high performance liquid chromatography for pharmaceutical analysis. *Chromatography* (33):2. pp.65-73.
- Khan. 1996. *Laboratory Statistics (3th edition)*. Inc. Missouri: Mosby Year Book.
- Miller, J.N. and J.C. Miller. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 5th edition. Pearson Education, Ltd. Page 116.
- NRC. 2007. *Nutrient Requirement of Small Ruminant: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Washington DC: National Academy Press.
- Pangabean, A. S, Pasaribu, S. P, and Kristiana, F. 2018. The Utilization of Nitrogen Gas a Carrier Gas in Determination of Hg Ions Using Cold Vapor-Atomic Absorption Spectrophotometer (CV-AAS). *Indones. J. Chem.* 18 (2). pp. 279-285.
- Pradhan, S., & M. R. Pokhrel. 2013. Spectrophotometric determination of phosphate in sugarcane juice, fertilizer, detergent and water samples by molybdenum blue method. *Scientific World* (11):11.
- Shyla, B., Mahadevaiah, G., Nagendrappa. 2011. A simple spectrophotometric method for the determination of phosphate in soil, detergents, water, bone and food samples through the formation of phosphomolybdate complex followed by its reduction with thiourea, *Spect. Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*
- Squadrone, S., Ferro, G. L., Marchis, D., Mauro, C., Palmegiano, P., Amato, G., ... & Abete, M. C. (2010). Determination of melamine in feed: validation of a gas chromatography–mass spectrometry method according to 2004/882/CE regulation. *Food Control*, 21(5), 714-718.
- Standar Internasional ISO/IEC 17025 (Versi Bahasa Indonesia) Persyaratan umum kompetensi laboratorium pengujian dan laboratorium
- Tuslinah, L., Winarti, P., & Zustika, D. S. 2022. Validasi Metode Analisis Logam Timbal (Pb) Dalam Rumput Laut Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* (22):1

Utomo, R., Agus, A., Astuti, A., and Alimon, A. R. 2021. *Bahan Pakan dan Formulasi Ransum*. UGM Press, Sleman

William Horwitz, Official Methods of Analysis of AOAC International, edisi 17, Association of Official Analytical Chemists, Michigan, 2000

Zhong, W. S., Ren, T., & Zhao, L. J. 2016. Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(1), 46–55.