

repository.ub.ac.id

**Metode *Sequential Injection Analysis* (SIA) Secara
Spektrofotometri UV-Vis Menggunakan Reagen
Acetoacetanilide untuk Penentuan Amonia Terlarut dalam
Limbah Cair di Kawasan Peternakan**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh :

FINI APRYANTINA

155090200111003



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

LEMBAR PENGESAHAN

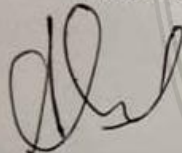
Metode *Sequential Injection Analysis* (SIA) Secara Spektrofotometri UV-Vis Menggunakan Reagen *Acetoacetanilide* untuk Penentuan Amonia Terlarut dalam Limbah Cair di Kawasan Peternakan

Oleh :

**FINI APRYANTINA
155090200111003**

Setelah diseminarkan di depan Majelis Penguji pada tanggal 21 Desember 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

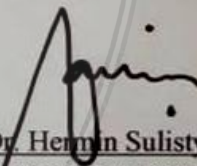
Pembimbing I



Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc

NIP. 19740418 199702 1 001

Pembimbing II



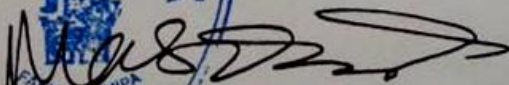
Dr. Hermin Sulistyarti

NIP. 19640529 198802 2 001

Mengetahui

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya



Masturi, S.Si., M.Si., Ph.D

NIP. 19731020 200212 1 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Fini Apryantina
NIM : 155090200111003
Jurusan : Kimia

Penulis Skripsi Berjudul:

Metode *Sequential Injection Analysis* (SIA) Secara Spektrofotometri UV-Vis Menggunakan Reagen *Acetoacetanilide* untuk Penentuan Amonia Terlarut dalam Limbah Cair di Kawasan Peternakan

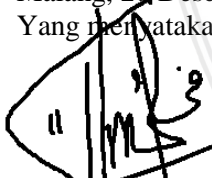
Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 28 Desember 2018

Yang menyatakan,



Fini Apryantina

NIM. 155090200111003

repository.ub.ac.id

Metode *Sequential Injection Analysis* (SIA) Secara Spektrofotometri UV-Vis Menggunakan Reagen *Acetoacetanilide* untuk Penentuan Amonia Terlarut dalam Limbah Cair di Kawasan Peternakan

ABSTRAK

Amonia merupakan senyawa kimia yang berbahaya apabila keberadaannya pada lingkungan dalam jumlah berlebih. Amonia banyak terkandung dalam aliran limbah cair yang berasal dari kawasan peternakan. Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 tahun 2014, ambang batas yang diperbolehkan untuk amonia pada limbah cair peternakan adalah 25 ppm. Penentuan amonia pada umumnya menggunakan metode spektrofotometri dan metode elektrode ion selektif, akan tetapi masing-masing metode tersebut memiliki kekurangan yaitu membutuhkan waktu lama dan sensitifitas rendah. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan amonia dalam aliran limbah cair di kawasan peternakan dengan metode *Sequential Injection Analysis* (SIA) menggunakan reagen *acetoacetanilide* pada berbagai kondisi optimum. Amonia akan bereaksi dengan reagen *acetoacetanilide* dan asetat-formaldehid berdasarkan reaksi Hantzsch membentuk produk yang akan terdeteksi oleh spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 307 nm. Kondisi optimum pembentukan produk terjadi pada urutan segmentasi asetat formaldehid-amonia-*acetoacetanilide*, konsentrasi *acetoacetanilide* 0,06 M, waktu reaksi 40 detik, dan laju alir 155 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Penentuan amonia dengan metode SIA menggunakan reagen *acetoacetanilide* dan formaldehid berdasarkan reaksi Hantzsch memiliki sensitifitas yang tinggi dengan % recovery sebesar 95,5% dan nilai LOD sebesar 0,194 ppm, waktu analisis sangat cepat yaitu 155 detik, jumlah sampel dan reagen yang dibutuhkan sangat sedikit, serta menggunakan reagen yang tidak berbahaya.

Kata kunci : *Sequential Injection Analysis*, amonia, reagen *acetoacetanilide*, reaksi Hantzsch.

repository.ub.ac.id

Sequential Injection Analysis (SIA) Method Using UV-Vis Spectrophotometry Using Acetoacetanilide Reagent for Determination of Ammonia Dissolved in Liquid Waste in Animal Husbandry Areas

ABSTRACT

Ammonia is a chemical compound that is dangerous if its presence in the environment in excessive amounts. Ammonia is contained in many streams of liquid waste originating from livestock areas. Based on Minister of Environment Regulation Number 5 of 2014, the permissible threshold for ammonia in livestock wastewater is 25 ppm. Ammonia determination generally uses a spectrophotometric method and selective ion electrode method, but each of these methods has a disadvantage that requires a long time and low sensitivity. This study aims to determine ammonia in the effluent stream in livestock areas using the Sequential Injection Analysis (SIA) method using acetoacetanilide reagents in various optimum conditions. Ammonia will react with acetoacetanilide and acetate-formaldehyde reagents based on the Hantzsch reaction to form a product that will be detected by a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 307 nm. The optimum condition of product formation occurred in the sequence of segmentation of formaldehyde-ammonia-acetoacetanilide acetate, acetoacetanilide concentration of 0.06 M, reaction time of 40 seconds, and flow rate of 155 μL / sec. Determination of ammonia by the SIA method using acetoacetanilide and formaldehyde reagents based on the Hantzsch reaction has a high sensitivity with% recovery of 95.5% and LOD value of 0.194 ppm, analysis time is very fast, 155 seconds, the number of samples and reagents required is very small, and use harmless reagents.

Keywords : *Sequential Injection Analysis, ammonia, acetoacetanilide reagent, Hantzsch reaction.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan kemudahan dalam penelitian serta penulisan skripsi dengan judul “**Metode *Sequential Injection Analysis* (SIA) Secara Spektrofotometri UV-Vis Menggunakan Reagen *Acetoacetanilide* untuk Penentuan Amonia Terlarut dalam Limbah Cair di Kawasan Peternakan**” sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik karena adanya bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc dan Dr. Hermin Sulistyarti selaku dosen pembimbing I dan II atas segala bimbingan dan pengarahan yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi,MS., selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan selama kuliah.
3. Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, staf pengajar, dan semua karyawan Jurusan Kimia atas semua fasilitas dan bantuan yang diberikan.
4. Kedua orang tua penulis yaitu Ayahanda Daman dan Ibunda Jiniati serta seluruh keluarga besar penulis di Ponorogo, atas do’a, motivasi, nasehat dan semua hal yang diberikan.
5. Seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian dan skripsi ini dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk lebih melengkapi penulisan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan bagi pembacanya.

Malang, 28 Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Limbah Cair Peternakan	5
2.2 Amonia	5
2.3 Metode Penentuan Amonia	6
2.4 <i>Sequential Injection Analysis</i> (SIA)	7
2.5 Optimasi Parameter SIA	9
2.6 Reaksi Hantzsch	10
2.7 Spektrofotometer UV-Visible	12
BAB III METODOLOGI	14
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	14
3.2.1 Alat-alat penelitian	14
3.2.2 Bahan-bahan penelitian	14
3.3 Tahapan Penelitian	14
3.4 Prosedur Kerja	15
3.4.1 Preparasi larutan	15
a. Pembuatan reagen AAA 0,05 M	15
b. Pembuatan reagen asetat-formaldehid	15
c. Pembuatan larutan stok amonia 100 ppm	15

d.	Pembuatan larutan amonia 3 ppm	16
e.	Pembuatan reagen AAA 0,01 – 0,1 M	16
f.	Pembuatan amonia 5 – 25 ppm	16
3.4.2	Penentuan panjang gelombang maksimum	16
3.4.3	Preparasi alat SIA	16
a.	Perangkaian alat SIA	16
b.	Pencucian pipa kapiler (<i>line</i>)	17
c.	Pengisian <i>line</i>	17
d.	Pendeteksian larutan amonia	18
3.4.4	Optimasi Parameter	19
a.	Penentuan segmentasi optimum	19
b.	Penentuan konsentrasi optimum reagen AAA	19
c.	Penentuan waktu reaksi optimum	19
d.	Penentuan laju alir optimum	20
3.4.5	Pembuatan kurva baku	20
3.4.6	Preparasi sampel	20
3.4.7	Pengukuran kadar amonia dalam sampel dan penentuan % <i>recovery</i>	21
3.4.8	Pengukuran LOD	21
3.4.9	Analisis data	21
a.	Perhitungan Persamaan Korelasi Linear	21
b.	Perhitungan Nilai Rata-Rata	21
c.	Perhitungan Standar Deviasi	22
d.	Perhitungan Limit Deteksi	22
e.	Perhitungan Kadar Amonia	22
f.	Perhitungan % <i>Recovery</i>	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		24
4.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	24
4.2	Optimasi Parameter	25
4.2.1	Penentuan Segmentasi Optimum	25
4.2.2	Penentuan Konsentrasi Optimum AAA	27
4.2.3	Penentuan Waktu Reaksi Optimum	29
4.2.4	Penentuan Laju Alir Optimum Menuju Detektor	31
4.3	Pembuatan Kurva Baku	32
4.4	Pengukuran Amonia pada Sampel	33
BAB V PENUTUP		35
5.1	Kesimpulan	35

5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Diagram sistem <i>Sequential Injection Analysis</i>	8
Gambar 2.2	Reaksi Hantzsch	11
Gambar 2.3	Struktur kimia <i>acetoacetanillide</i>	11
Gambar 2.4	Prinsip kerja spektrofotometer UV-Visible	12
Gambar 3.1	Skema sistem SIA	18
Gambar 4.1	Spektra produk reaksi antara amonia, asetat-formaldehid, dan <i>acetoacetanillide</i> pada λ 200 – 600 nm	24
Gambar 4.2	Grafik hubungan antara segmentasi dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch	26
Gambar 4.3	Grafik hubungan antara konsentrasi AAA dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch	28
Gambar 4.4	Grafik (1) dan profil peak (2) hubungan antara waktu reaksi dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch	30
Gambar 4.5	Grafik hubungan antara waktu reaksi dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch	32
Gambar 4.6	Kurva baku produk reaksi Hantzsch	33
Gambar L.F.1	Spektra Produk Reaksi Hantzsch pada λ 200 – 600 nm	56
Gambar L.F.2	SIA-gram optimasi segmentasi	56
Gambar L.F.3	SIA- gram optimasi konsentrasi AAA	57
Gambar L.F.4	SIA-gram optimasi waktu reaksi	57
Gambar L.H.1	Rangkaian alat SIA	60
Gambar L.H.2	<i>Syringe pump</i> SIA	60
Gambar L.H.3	<i>Syringe valve</i>	61
Gambar L.H.4	<i>Mixing tip</i>	61
Gambar L.H.5	Detektor spektrofotometer UV-Vis	62
Gambar L.H.6	<i>Acetoacetanillide</i>	62
Gambar L.H.7	Asam asetat glasial	63
Gambar L.H.8	Amonia <i>solution</i>	63
Gambar L.I.1	Perintah pendeteksian amonia menggunakan aplikasi pada metode SIA	68
Gambar L.K.1	Reaksi Hantzsch pada AAA, amonia, dan formaldehid	70

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Baku mutu air limbah peternakan	6
Tabel 4.1	Tipe segmentasi	25
Tabel 4.2	Hasil pengukuran amonia pada sampel	34
Tabel L.C.1	Pembuatan <i>reagent solution</i> AAA	47
Tabel L.C.2	Pembuatan variasi konsentrasi amonia	48
Tabel L.D.1	Pengukuran panjang gelombang maksimum produk reaksi Hantzsch	49
Tabel L.D.2	Absorbansi produk reaksi Hantzsch pada optimasi segmentasi	49
Tabel L.D.3	Absorbansi produk reaksi Hantzsch pada optimasi konsentrasi AAA	50
Tabel L.D.4	Absorbansi produk reaksi Hantzsch pada optimasi waktu reaksi	50
Tabel L.D.5	Absorbansi produk reaksi Hantzsch pada optimasi laju alir	50
Tabel L.D.6	Absorbansi produk reaksi Hantzsch pada berbagai konsentrasi (0-25 ppm)	51
Tabel L.D.7	Data pengukuran amonia pada sampel 1	51
Tabel L.D.8	Data pengukuran amonia pada sampel 2	51
Tabel L.D.9	Data pengukuran amonia pada sampel 3	52
Tabel L.E.1	Data absorbansi blanko pada pengukuran amonia	53
Tabel L.E.2	Absorbansi dan konsentrasi sampel setelah penambahan larutan standar	54
Tabel L.G.1	Kondisi operasional SIA	58
Tabel L.H.1	Dokumentasi preparasi larutan sampel	64
Tabel L.H.2	Dokumentasi identifikasi pembentukan endapan putih pada <i>reagen solution</i> AAA	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	A. Diagram Alir Penelitian	40
Lampiran	B. Preparasi Larutan Sekunder	42
	B.1 Pembuatan Larutan Stok AAA 0,2 M	42
	B.2 Pembuatan Etanol 40%	42
	B.3 Pembuatan Asam Asetat 1 M	42
	B.4 Pembuatan Larutan Natrium Asetat 1,67 M pH 6	42
Lampiran	C. Perhitungan Preparasi Larutan	43
	C.1 Perhitungan Pembuatan Etanol 40%	43
	C.2 Perhitungan Pembuatan AAA 0,2M	43
	C.3 Perhitungan Pembuatan AAA 0,05M	43
	C.4 Perhitungan Pembuatan Asam Asetat 1 M	43
	C.5 Perhitungan Pembuatan Natrium Asetat 1,67 M	44
	C.6 Perhitungan Pembuatan Reagen Asetat- Formaldehid	44
	C.7 Perhitungan Pembuatan Larutan Stok Amonia 30 ppm	44
	C.8 Perhitungan Pembuatan Variasi Konsentrasi AAA 0,01 – 0,1 M	45
	C.9 Perhitungan Pembuatan Amonia 3 ppm dan Pembuatan Larutan Standar 5 – 25 ppm	47
Lampiran	D. Data Hasil Penelitian	49
	D.1 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Produk Reaksi Hantzsch	49
	D.2 Optimasi Segmentasi	49
	D.3 Optimasi Konsentrasi AAA	50
	D.4 Optimasi Waktu Reaksi	50
	D.5 Optimasi Laju Alir	50
	D.6 Kurva Baku Produk Reaksi Hantzsch	51
	D.7 Pengukuran Sampel 1 (Aliran Limbah Cair Laboratorium Lapang Fakultas Peternakan UB)	51
	D.8 Pengukuran Sampel 2 (Aliran Limbah Cair Peternakan di Kecamatan Junrejo Kota Batu)	51
	D.9 Pengukuran Sampel 3 (Aliran Limbah Cair Peternakan di Kecamatan Dau Kabupaten Malang)	52

Lampiran E. Perhitungan Limit Deteksi dan % <i>Recovery</i>	53
E.1 Limit Deteksi (LOD)	53
E.2 Uji Validitas (% <i>Recovery</i>)	54
Lampiran F. Profil Peak Pengukuran	56
Lampiran G. Kondisi Operasional SIA	58
Lampiran H. Dokumentasi Alat, Bahan dan Hasil	60
Lampiran I. Contoh Tampilan Perintah	68
Lampiran J. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014	69
Lampiran K. Reaksi Hantzsch pada AAA, Amonia, dan Formaldehid	70



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
AAA	<i>Acetoacetanilide</i>
SIA	Sequential Injection Analysis
FIA	Flow Injection Analysis
OPA	<i>O-Pthaldehyde</i>
LOD	Limit of Detection
RSD	Relatif Standar Deviasi
SD	Standar Deviasi
SP	<i>Syringe Pump</i>
SV	<i>Selection Valve</i>
VM	<i>Valve Mixing</i>





BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peternakan merupakan salah satu sektor yang sangat penting dalam memenuhi kebutuhan pangan dan menunjang perekonomian masyarakat Indonesia [1]. Sektor peternakan sebagai penyedia kebutuhan daging nasional didominasi oleh usaha peternakan rakyat yang mencapai 90%, sedangkan sisanya sebesar 10% berasal dari usaha peternakan milik pemerintah. Saat ini, usaha peternakan tidak hanya dilakukan secara tradisional dalam skala kecil, akan tetapi usaha peternakan terus dikembangkan dalam skala yang lebih besar [2]. Pada Jambore Peternakan Nasional 2017 yang berlokasi di Cibubur, Jakarta Timur, Presiden Joko Widodo mengungkapkan keinginannya untuk membangun industri peternakan dalam skala besar dan profesional seperti sebuah korporasi di tanah air dengan harapan lebih memudahkan mengkoordinasi peternak di Indonesia. Oleh karena itu, kawasan peternakan di Indonesia diprediksikan akan terus meningkat [3].

Keberadaan kawasan peternakan di seluruh Indonesia tidak hanya memberikan dampak positif. Akhir-akhir ini, usaha peternakan dikategorikan sebagai usaha yang terlibat dalam pencemaran lingkungan. Hal ini dibuktikan dengan dikeluarkannya peraturan menteri melalui SK Mentan No. 237/1991 dan SK Mentan No. 752/1994, yang menyatakan bahwa usaha peternakan dengan populasi tertentu perlu dilengkapi dengan pengelolaan dan pemantauan lingkungan [4]. Sumber utama pencemaran lingkungan di kawasan peternakan adalah limbah cair. Pada umumnya, limbah cair peternakan memiliki karakteristik berwarna hijau pekat dan mengeluarkan bau menyengat, khususnya limbah cair dari peternakan sapi. Limbah cair tersebut berasal dari feses dan urine hewan ternak yang diketahui memiliki kandungan amonia yang sangat tinggi [5].

Amonia merupakan salah satu senyawa yang berbahaya bagi lingkungan apabila keberadaannya dalam jumlah berlebih. Dalam Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014 yang terlampir pada lampiran J, baku mutu amonia untuk aliran limbah cair peternakan adalah sebesar 25 ppm [6]. Sementara itu, dalam Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 tentang pengelolaan

kualitas air dan pengendalian pencemaran air, baku mutu amonia untuk sungai kelas satu adalah sebesar 0,5 mg/L. Pada konsentrasi 1 mg NH₃/liter, amonia dapat menyebabkan ikan mati karena dapat mengurangi konsentrasi oksigen dalam air sehingga menyebabkan hipoksia atau kekurangan oksigen pada jaringan tubuh ikan [7]. Oleh karena itu, diperlukan metode untuk mendeteksi kadar amonia pada aliran limbah cair peternakan sebelum limbah tersebut dialirkan ke lingkungan. Metode penentuan amonia tersebut sangat penting untuk dilakukan karena menjadi dasar dalam penanganan lebih lanjut terhadap kadar amonia yang masih tinggi dalam aliran limbah cair peternakan.

Beberapa metode telah digunakan untuk menentukan kadar amonia. Metode-metode tersebut diantaranya adalah metode kromatografi ion, elektrode penginderaan gas amonia, spektrofotometri, flourometri, dan *chemiluminescence*. Dari beberapa metode tersebut, metode yang paling sering digunakan untuk menentukan konsentrasi amonia adalah metode spektrofotometri *indophenol blue*. Akan tetapi, metode tersebut membutuhkan waktu lama dan sensitivitas rendah. Sementara itu, metode yang biasa digunakan untuk penentuan amonia dalam sampel lingkungan perairan adalah metode elektrode amonia selektif. Namun, metode tersebut juga memiliki kelemahan, yaitu rentan terhadap gangguan amina dan sensitivitas elektrode rendah [8]. Selain metode konvensional, penentuan amonia juga dapat dilakukan dengan metode otomatis secara *online*, yaitu metode *Sequential Injection Analysis* (SIA). Pada penelitian Giakisiklia dkk.[9], penentuan amonia dengan metode SIA memiliki limit deteksi sebesar 0,018 mg/L. Penelitian tersebut telah menggunakan metode otomatis, namun memiliki kekurangan yaitu menggunakan reagen-reagen yang berbahaya, seperti sulfit dan *o-phthaldialdehyde*.

Pada penelitian ini, metode SIA dikombinasikan dengan reagen *acetoacetanilide* untuk menentukan kadar amonia dalam limbah cair peternakan. Reagen tersebut dilaporkan tidak berbahaya, ramah lingkungan, dan memiliki sensitivitas yang tinggi [10]. Reagen tersebut akan bereaksi dengan amonia dan asetat-formaldehid berdasarkan reaksi Hantzsch membentuk produk yang akan terdeteksi pada detektor spektrofotometer Uv-Vis. Sementara itu, keberhasilan metode SIA tersebut sangat dipengaruhi oleh

parameter-parameter fisika dan kimia, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan optimasi parameter yang meliputi segmentasi, konsentrasi reagen *acetoacetanilide*, waktu reaksi, dan laju alir menuju detektor.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang dapat dirumuskan berdasarkan latar belakang, yaitu:

1. Bagaimana kondisi optimum (segmentasi, konsentrasi reagen *acetoacetanilide*, waktu reaksi, serta laju alir) pada penentuan amonia menggunakan SIA?
2. Bagaimana sensitivitas metode SIA berdasarkan nilai LOD dalam penentuan amonia secara spektrofotometri UV-Visible menggunakan reagen *acetoacetanilide* (AAA)?
3. Bagaimana aplikasi SIA dan validitas metode tersebut berdasarkan % *recovery* untuk penentuan amonia dalam sampel limbah cair di kawasan peternakan?

1.3 Batasan Masalah

Pada penelitian ini ada beberapa batasan masalah yang diambil, yaitu:

1. Amonia yang akan ditentukan dengan metode ini berupa amonia terlarut dalam limbah cair kawasan peternakan.
2. Reagen *acetoacetanilide* yang digunakan dalam bentuk *reagent solution* dalam pelarut etanol.
3. Formaldehid yang digunakan dalam bentuk *reagent solution* yang dibuat dari formaldehid 40% dan amonium asetat 1,67 M dengan perbandingan volume 2:3.
4. Sampel yang digunakan berasal dari tiga kawasan peternakan di Kabupaten Malang, yaitu aliran limbah Laboratorium Lapang Fakultas Peternakan UB (sampel 1), aliran limbah peternakan warga di Kecamatan Junrejo Kota Batu (sampel 2), dan aliran limbah peternakan warga di Kecamatan Dau Kabupaten Malang (Sampel 3).
5. Sampel yang digunakan tanpa pengawetan dan pengukuran sampel dilakukan pada hari yang sama dengan pengambilan sampel.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu :

1. Menentukan kondisi optimum (segmentasi, konsentrasi reagen *acetoacetanilide*, waktu reaksi, dan laju alir) pada penentuan amonia secara SIA.
2. Menentukan sensitivitas metode SIA berdasarkan nilai LOD dalam penentuan amonia secara spektrofotometri UV-Visible menggunakan reagen *acetoacetanilide* (AAA).
3. Mengaplikasikan SIA dan menentukan validitas metode tersebut berdasarkan % *recovery* untuk penentuan amonia dalam sampel limbah cair di kawasan peternakan.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan inovasi baru untuk menganalisa kandungan amonia dalam limbah cair di kawasan peternakan dengan metode yang lebih efektif dan dapat memberikan berbagai keuntungan dibandingkan metode yang sudah ada. Dengan adanya metode baru dalam penentuan amonia ini, maka keberadaan amonia dalam limbah cair dapat segera terdeteksi dengan metode yang sederhana tetapi efisiensi tinggi dan proses cepat sehingga potensinya sebagai salah satu sumber pencemar lingkungan dapat diatasi lebih dini.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Cair Peternakan

Limbah merupakan bahan organik maupun anorganik yang tidak termanfaatkan lagi sehingga dapat menimbulkan masalah serius bagi lingkungan jika tidak ditangani dengan baik. Limbah peternakan adalah limbah yang berasal dari berbagai sumber buangan dari suatu proses produksi peternakan, seperti limbah dari rumah potong hewan, pengolahan produksi ternak, maupun hasil dari kegiatan peternakan itu sendiri. Limbah peternakan dapat berupa limbah padat, cair, maupun gas [11].

Limbah cair peternakan berbentuk cairan pekat yang mengeluarkan bau menyengat. Pada umumnya, limbah cair peternakan dihasilkan oleh aktivitas peternakan seperti feses, urine, sisa pakan, dan air dari pembersihan ternak maupun kandang [12]. Limbah cair peternakan berbau menyengat karena adanya kandungan amonia (NH_3) dan asam sulfida (H_2S) dalam feses dan urine. Lebih lanjut, limbah peternakan mempunyai bau tidak sedap karena merupakan sisa metabolisme dan pemecahan bahan organik oleh mikroorganisme dalam suasana anaerob yang menghasilkan senyawa antara lain indol, asam lemak, dan amonia [13].

2.2 Amonia

Amonia adalah senyawa kimia dengan rumus NH_3 dengan berat molekul sebesar 17,03 g/mol. Amonia merupakan gas berbau tajam yang tidak berwarna dengan titik didih $33,5^\circ\text{C}$. Secara fisik, amonia mirip dengan air dalam perilaku fisiknya dimana bergabung sangat kuat melalui ikatan hidrogen [14].

Amonia yang larut dalam air dan bereaksi dengan air membentuk amonium hidroksida disebut amoniak. Pada $\text{pH} \leq 7$, sebagian besar amoniak akan mengalami ionisasi membentuk NH_4^+ dan OH^- . Sedangkan pada pH di atas 7, amoniak tidak terionisasi dan berada dalam keadaan bebas (NH_3) atau berada dalam keadaan tereduksi (-3). Dengan demikian, amoniak yang terukur di perairan berupa amoniak total, yaitu NH_3 dan NH_4^+ [15].

Amonia pada air permukaan berasal dari air seni, air tinja, serta dari oksidasi zat organik secara mikrobiologis. Amoniak bebas

yang tidak terionisasi bersifat toksik terhadap organisme akuatik sehingga kadar amoniak yang tinggi pada perairan menunjukkan adanya pencemaran. Peningkatan toksisitas amonia terhadap organisme akuatik tersebut akan meningkat apabila terjadi penurunan kadar oksigen terlarut dan suhu [16].

Dalam Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, baku mutu amonia untuk sungai kelas satu adalah sebesar 0,5 mg/liter. Pada konsentrasi 1 mg NH₃/liter, amonia dapat menyebabkan ikan mati karena dapat mengurangi konsentrasi oksigen dalam air. Sementara itu, dalam peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014, baku mutu amonia dalam aliran limbah cair peternakan adalah sebesar 25 ppm [17].

Tabel 2.1 Baku mutu air limbah peternakan

Parameter	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Beban Pencemaran Paling Tinggi (gram/ekor/hari)	
		Sapi	Babi
BOD	100	20	4
COD	200	40	8
TSS	100	20	4
NH ₃	25	5	1
Ph		6-9	
Kuantitas air limbah paling tinggi		Sapi : 200 L/ekor/hari Babi : 40 L/ekor/hari	

2.3 Metode Penentuan Amonia

Beberapa metode deteksi telah digunakan untuk menentukan amonia atau ion amonium. Metode-metode tersebut diantaranya adalah metode kromatografi ion, elektrode penginderaan gas amonia (*ammonia gas sensing electrode*), spektrofotometri, flourometri, dan *chemiluminescence*. Dari beberapa metode tersebut, metode yang paling sering digunakan untuk menentukan konsentrasi amonia adalah metode spektrofotometri *indophenol blue*. Akan tetapi, metode tersebut membutuhkan waktu lama dan sensitivitas rendah. Sementara itu, metode yang biasa digunakan untuk penentuan amonia dalam sampel lingkungan perairan adalah metode elektrode amonia selektif. Namun, metode tersebut juga memiliki kelemahan,

yaitu rentan terhadap gangguan amonia dan sensitivitas elektrode rendah [18].

Dewasa ini, dikembangkan suatu metode baru untuk penentuan amonia yang dikombinasikan dengan beberapa detektor, seperti spektrofotometri dan flourometri, yaitu metode *Flow Injection Analysis* (FIA). FIA adalah metode analisis berbasis aliran non-segmentasi yang didasarkan pada injeksi sampel cairan ke dalam aliran pembawa yang bergerak secara kontinu. Sampel yang diinjeksikan akan membentuk zona, kemudian dibawa ke arah detektor yang terus-menerus mencatat perubahan dalam bentuk absorbansi, potensial elektroda, atau parameter fisik lainnya yang dihasilkan dari pengalihan bahan sampel melalui sel aliran [19]. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu memiliki operasi yang sederhana, jumlah sampel dan reagen yang dibutuhkan sangat sedikit, waktu proses sangat cepat, memiliki presisi dan sensitivitas yang tinggi [20].

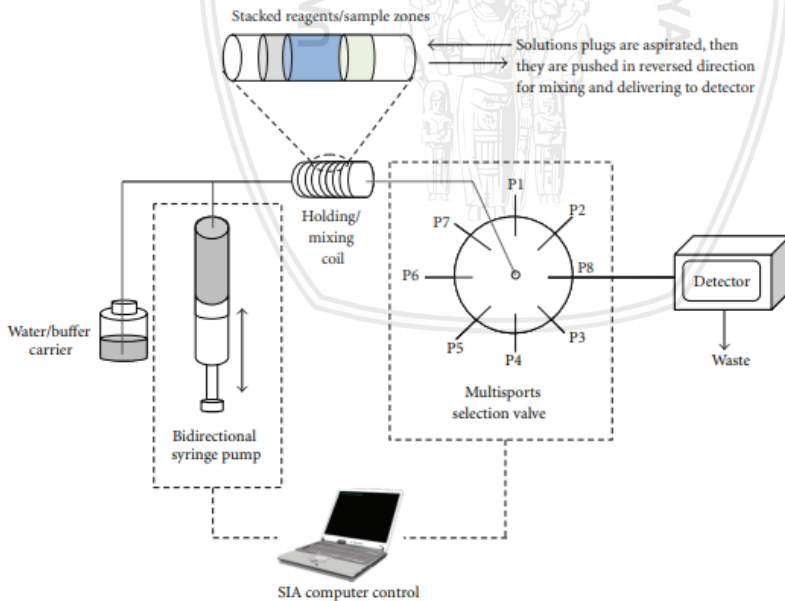
Dalam penelitian lebih lanjut mengenai metode analisa berbasis aliran, ditemukan metode yang lebih baru di samping *Flow Injection Analysis* (FIA), yaitu metode *Sequential Injection Analysis* (SIA). Pada pertengahan tahun 2017, metode SIA berhasil diterapkan untuk penentuan amonium dalam sampel air yang diperoleh dari Water Treatment Unit Breadboard (WTUB) yang terletak di Antartika Concordia Research Station. Pada penelitian ini, metode SIA didasarkan pada reaksi antara amonia dan o-pthaldehyde dengan adanya sulfit dalam media alkalin (pH ± 11). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode SIA dengan reagen o-pthaldehyde memiliki limit deteksi antara 0,06 – 4,00 mg/L NH_4^+ . Keakuratan metode SIA dalam penentuan amonium ini dievaluasi dengan menganalisis bahan referensi standar serta menggunakan metode tersertifikasi (*indophenol blue*) untuk penentuan amonium [21].

2.4 Sequential Injection Analysis (SIA)

Sequential Injection Analysis (SIA) adalah salah satu metode analisis berbasis aliran yang merupakan generasi kedua dari teknik *Flow Injection Analysis* (FIA). Perbedaan SIA dengan FIA terletak pada jenis pompa, *mutiposition valve* dan pengaturan sistem kerja dimana seluruh pengaturan SIA dikendalikan oleh komputer. Pada *mutiposition valve* SIA, terdapat beberapa *channel* yang

dihubungkan dengan sampel, reagen, *mixing coil*, limbah dan detektor. Sampel dan reagen dapat diinjeksikan masuk ke dalam sistem SIA menggunakan jenis pompa dua arah (*syringe pump*). Jenis pompa ini memiliki kemampuan untuk menarik (*aspirate*) dan mendorong (*dispense*) larutan. Pada sistem SIA, sebuah *holding coil* ditempatkan antara pompa dan *multiposition valve* yang berguna sebagai tempat pemberhentian sementara sampel dan reagen [22].

Secara umum mekanisme kerja SIA, larutan sampel dan reagen akan ditarik masuk ke dalam *holding coil* menggunakan *syringe pump* pada posisi *aspirate* secara berurutan. Untuk menyempurnakan proses reaksi, larutan tersebut kemudian dialirkan ke dalam *mixing coil* dengan menggunakan jenis pompa yang sama pada posisi *dispense*. Larutan sampel dan reagen akan terdorong masuk ke dalam *mixing coil*. Pada keadaan ini sampel dan reagen bereaksi secara kimia sehingga dapat diukur secara kuantitatif menggunakan detektor. Larutan campuran kemudian di alirkan menuju detektor menggunakan *carrier*. *Carrier* dapat mendispersi larutan campuran sehingga menghasilkan puncak sinyal yang terbaca pada detektor [23].



Gambar 2.1 Diagram sistem *Sequential Injection Analysis* [24]

2.5 Optimasi Parameter Sistem SIA

Kinerja sistem *Sequential Injection Analysis* (SIA) sangat dipengaruhi oleh beberapa parameter baik parameter kimia maupun parameter alir, sehingga pada penerapan metode diperlukan optimasi. Pada penelitian Giakisikli dkk. [9], pada penentuan amonia dengan metode SIA, dilakukan optimasi terhadap beberapa parameter berikut :

- a. Suhu reaksi
Optimasi suhu reaksi dilakukan pada range 30 – 80°C. Pada suhu 30 – 70°C, intensitas flouresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian pada suhu 80°C, intensitas flouresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, kondisi optimum suhu reaksi diperoleh pada 70°C.
- b. Waktu pemanasan
Optimasi waktu pemanasan pada *holding coil* dilakukan pada range 30 – 150 detik. Hasilnya, pada waktu 30 – 120 detik intensitas flouresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian pada waktu ≥ 130 detik, intensitas flouresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, kondisi optimum waktu pemanasan diperoleh pada 120 detik.
- c. Konsentrasi reagen OPA (*o-phthaldehyde*)
Optimasi konsentrasi OPA dilakukan pada range 0,5 – 5,0 mmol/L. Pada konsentrasi 0,5 – 3,0 mmol/L intensitas flouresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian pada konsentrasi 3,5 – 5,0 mmol/L, intensitas flouresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, kondisi optimum konsentrasi reagen OPA adalah 3,0 mmol/L
- d. Volume injeksi reagen OPA
Optimasi volume injeksi reagen OPA dilakukan pada range 20 – 50 μL . Pada volume injeksi 20 – 40 μL , intensitas flouresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian, pada volume injeksi 50 μL intensitas flouresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, volume injeksi optimum reagen OPA adalah 40 μL .
- e. Konsentrasi sodium sulfite

Optimasi konsentrasi sodium sulfit dilakukan pada range 0,5 – 5,0 mmol/L. Pada konsentrasi 0,5 – 3,0 mmol/L intensitas fluoresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian pada konsentrasi 3,5 – 5,0 mmol/L, intensitas fluoresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, kondisi optimum konsentrasi sodium sulfit adalah 3,0 mmol/L

f. Volume injeksi sodium sulfit

Optimasi volume injeksi sodium sulfit dilakukan pada range 5 – 25 μ L. Pada volume injeksi 5 - 20 μ L, intensitas fluoresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian, pada volume injeksi 25 μ L intensitas fluoresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, volume injeksi optimum reagen sodium sulfit adalah 20 μ L.

g. Volume Injeksi Sampel

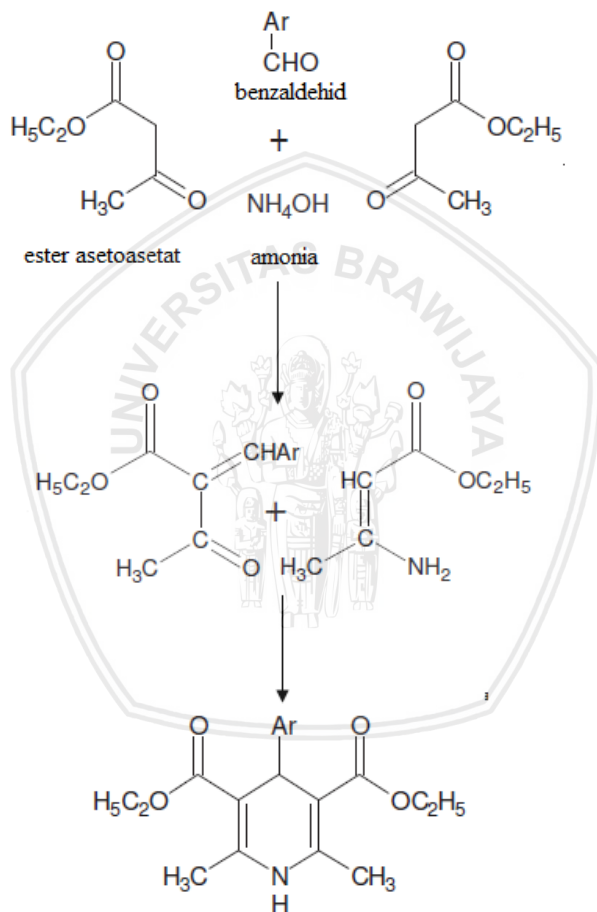
Optimasi volume injeksi sampel amonium dilakukan pada range 5 – 60 μ L. Pada volume injeksi 5 - 40 μ L, intensitas fluoresensi terus mengalami kenaikan. Kemudian, pada volume injeksi 45 μ L intensitas fluoresensi mengalami penurunan. Dengan demikian, volume injeksi optimum sampel adalah 40 μ L.

2.6 Reaksi Hantzsch

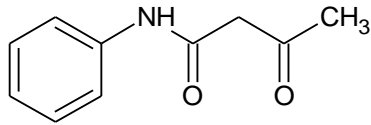
Reaksi Hantzsch adalah jenis reaksi yang dilaporkan oleh Arthur Hantzsch untuk mendeskripsikan preparasi 1,4-dihidropiridin sehingga piridin tersebut dinamakan *Hantzsch pyridines*. Selanjutnya, reaksi Hantzsch didefinisikan sebagai reaksi antara tiga komponen (ester asetoasetat, benzaldehid, dan amonia) pada sintesis alami dengan refluks etanol [25]. Reaksi Hantzsch melibatkan siklisasi amina, aldehid, dan β -diketon untuk membentuk derivat dihidropiridin sesuai tahapan reaksi pada gambar 2.2.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Qiong Li disebutkan bahwa Reaksi Hantzsch dapat terjadi pada amonia dengan formaldehid menggunakan reagen *acetoacetanilide*. Amonia dan formaldehid dengan perbandingan mol 1:1 dapat membentuk produk berwarna kuning setelah bereaksi dengan dua mol *acetoacetanilide*. Produk berwarna kuning tersebut merupakan produk reaksi Hantzsch yang merupakan turunan dihiropiridin [26].

Acetoacetanilide adalah senyawa berbentuk padatan kristalin berwarna putih dengan struktur kimia seperti pada gambar 2.3. *Acetoacetanilide* larut dalam eter, etanol, kloroform, benzena, dan larutan soda kaustik. *Acetoacetanilide* memiliki kelarutan yang rendah dalam air (5 g/L) serta tidak larut dalam amonia dan natrium bikarbonat. *Acetoacetanilide* tergolong zat yang tidak berbahaya dan memiliki tingkat alergen yang rendah [27].



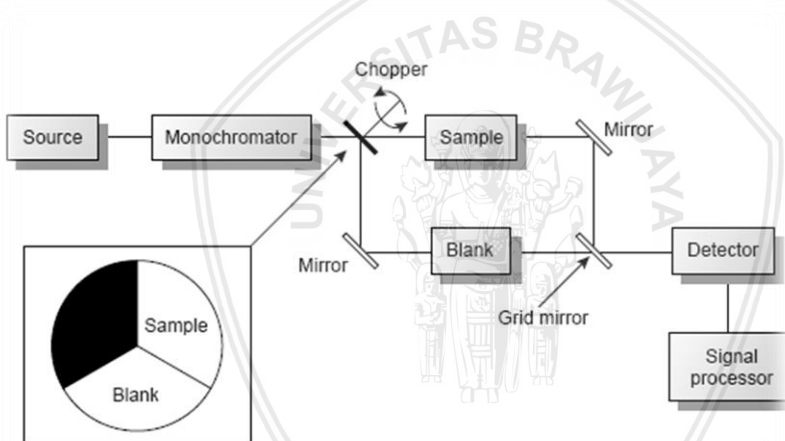
Gambar 2.2 Reaksi Hantzsch



Gambar 2.3 Struktur kimia *acetoacetanilide* [28]

2.7 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis kimia yang sering digunakan. Teknik ini melibatkan pengukuran jumlah radiasi sinar ultraviolet atau sinar tampak yang diserap oleh larutan. Spektrofotometer UV-Vis ini akan menyerap sinar di daerah UV dengan panjang gelombang 190 – 400 nm dan daerah sinar tampak dengan panjang gelombang 400 – 800 nm [29].



Gambar 2.4 Prinsip kerja spektrofotometer UV-Visible

Penyerapan sinar UV dan sinar tampak secara kuantitatif dijelaskan oleh hukum Lambert Beer. Menurut hukum Lambert, setiap lapisan medium akan menyerap sinar yang tidak bergantung pada intensitas sinar datang. Sedangkan hukum Beer menyatakan bahwa jumlah sinar yang diserap akan sebanding dengan konsentrasi suatu substansi dan ketebalan bahan atau medium.

Kedua hukum ini kemudian membentuk suatu hukum yang disebut hukum Lambert-Beer dengan rumus matematis [30].

$$\text{Log}_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right) = \text{Log}\left(\frac{1}{T}\right) = A = \epsilon bc \quad (2.1)$$

I_0 merupakan intensitas sinar datang, I merupakan intensitas sinar yang ditransmisikan, T merupakan transmisi yang diperoleh dari (I/I_0) , A merupakan absorbansi, ϵ merupakan koefisien absorpsi molar, b adalah tebal kuvet (panjang medium yang dilewati sinar, biasanya dalam satuan cm), dan c adalah konsentrasi suatu bahan. Hukum ini hanya berlaku pada sinar monokromatis sehingga radiasi hanya berasal dari satu panjang gelombang tertentu. Penyerapan sinar akan spesifik pada panjang gelombang tertentu yang berbeda untuk setiap zat. Pada spektrofotometri, larutan berwarna yang terlihat oleh mata (warna komplementer) berbeda dengan warna yang diserap.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dan perancangan alat dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan UPT Instrumentasi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang selama empat bulan mulai Agustus sampai November 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan gelas, neraca analitis Mettler, botol semprot, dan seperangkat alat SIA (*laboratory made SIA system*) yang terdiri dari *syringe pump* (SP; Hamilton, Reno, Nevada, USA) dengan volume 2500 μL , delapan katup *selection valve* (SP; Hamilton, Reno, Nevada, USA), detektor berupa spektrofotometer UV-Vis dan kuvet detektor kolorimeter RGB-LED yang dikontrol komputer menggunakan *home-made software* berbasis *Visual Basic Program*, pipa kapiler (PTFE 0,75 mm i.d), pipa kapiler untuk *holding coil* (PTFE 1,8 mm i.d), dan pH meter (Horiba).

3.4.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan-bahan kimia pro analisis (p.a), yaitu amonia 25%, *acetoacetanilide*, formaldehid 40%, natrium asetat, asam asetat 100%, dan etanol 90-95% kecuali akuades dan sampel limbah cair dari kawasan peternakan.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Preparasi bahan
2. Preparasi larutan
 - a. Pembuatan reagen AAA 0,05 M
 - b. Pembuatan reagen asetat-formaldehid
 - c. Pembuatan larutan stok amonia 100 ppm
 - d. Pembuatan larutan amonia 3 ppm
 - e. Pembuatan reagen AAA 0,01 – 0,1 M

- f. Pembuatan larutan standar amonia 5 -25 ppm
3. Penentuan panjang gelombang maksimum
4. Preparasi alat SIA
 - a. Perangkaian alat SIA
 - b. Pencucian pipa kapiler
 - c. Pengisian *line*
 - d. Pendeteksian larutan amonia
5. Optimasi parameter
 - a. Penentuan segmentasi optimum
 - b. Penentuan konsentrasi optimum reagen AAA
 - c. Penentuan waktu reaksi optimum
 - d. Penentuan laju alir optimum
6. Pembuatan kurva baku
7. Pengukuran LOD
8. Preparasi sampel
9. Pengukuran kadar amonia dalam sampel dan penentuan % *recovery*
10. Analisis data

3.4 Prosedur Kerja Penelitian

3.4.1 Preparasi Larutan

a. Pembuatan Reagen AAA 0,05 M

Larutan stok AAA 0,2 M yang dibuat sesuai prosedur pada lampiran B.1 diambil sebanyak 2,5 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan etanol 40% hingga tepat tanda batas, dan dikocok hingga homogen.

b. Pembuatan Reagen Asetat-Formaldehid

Larutan stok formaldehid 40% diambil sebanyak 4 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL. Kemudian ditambahkan dengan larutan natrium asetat 1,67 M pH 6 yang dibuat sesuai prosedur pada lampiran B.4 hingga tepat tanda batas dan dikocok hingga homogen.

c. Pembuatan Larutan Stok Amonia 100 ppm

Larutan stok amonia 25% diambil sebanyak 41,7 μL menggunakan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam labu takar 100

mL. Kemudian ditambahkan akuades hingga tepat tanda batas dan dikocok hingga homogen.

d. Pembuatan Larutan Amonia 3 ppm

Larutan amonia 100 ppm diambil sebanyak 300 μ L menggunakan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan dengan akuades hingga tepat tanda batas dan dikocok hingga homogen.

e. Pembuatan Reagen AAA 0,01 – 0,1 M

Larutan AAA 0,2 M yang dibuat sesuai prosedur pada lampiran B.1 diambil sebanyak 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 4,5; dan 5,0 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan masing-masing dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL. Masing-masing larutan ditambahkan etanol 40% hingga tepat tanda batas dan dikocok hingga homogen.

f. Pembuatan Larutan Standar Amonia 5 – 25 ppm

Larutan stok amonia 100 ppm diambil sebanyak 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan masing-masing dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan dengan akuades hingga tepat tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang 200-600 nm. Pada tahapan ini digunakan volume larutan campuran yaitu reagen asetat-formaldehid, larutan amonia 3 ppm, dan *reagen solution acetoacetanilide* 0,05 M dengan perbandingan volume 4:2:3. Larutan blanko yang digunakan adalah campuran reagen asetat-formaldehid dan *reagen solution acetoacetanilide* dengan perbandingan 4:3.

3.4.3 Preparasi Alat SIA

a. Perangkaian Alat SIA

Komponen-komponen alat SIA dihubungkan satu sama lain, yaitu *syringe pump*, *holding coil*, *multi-position valve*, dan pipa

repository.ub.ac.id

kapiler pada masing-masing valve pos. Selanjutnya, seperangkat alat SIA dihubungkan dengan detektor spektrofotometer UV-Visible. *Flow-cell* dimasukkan dalam *sample compartment* spektrofotometer UV-Visible. Kemudian, pipa kapiler pada pos 2 dihubungkan dengan salah satu pipa kapiler yang berada pada *flow-cell*. Sementara itu, satu pipa kapiler lain pada *flow-cell* dihubungkan dengan pipa kapiler untuk aliran limbah. Tahap selanjutnya, seperangkat alat SIA maupun detektor spektrofotometer UV-Visible dihubungkan dengan sumber listrik.

b. Pencucian Pipa Kapiler (*Line*)

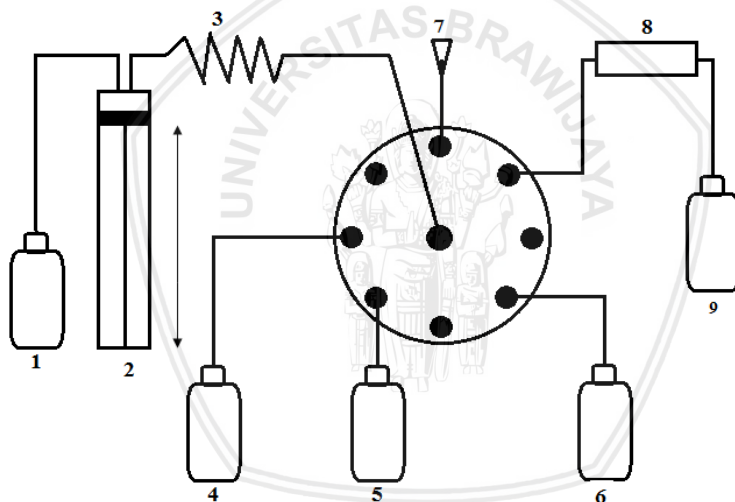
Semua pipa kapiler dan detektor dicuci menggunakan akuades dengan cara *syringe valve* diatur pada posisi *in* dan *syringe pump* mengambil sebanyak 2500 μL akuades dengan kecepatan 100 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Selanjutnya *syringe valve* diubah pada posisi *out* dan *syringe valve* akan mengalirkan akuades pada *holding coil* yang selanjutnya dialirkan menuju *selection valve* pada masing-masing pos. Akuades yang dialirkan menuju *reaction chamber* di pos 1 dan line 3,4,5,6, 7 dan 8 sebanyak 500 μL dengan laju alir 100 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Sisa akuades dialirkan menuju pos 2 yaitu detektor dengan laju alir 100 $\mu\text{L}/\text{detik}$.

c. Pengisian Line

Setiap *line* pada masing-masing pos dialiri dengan larutan amonia (sampel atau standar), *reagent solution acetoacetanilide*, dan reagen asetat-formaldehid. *Syringe valve* diatur pada posisi *out* dan *syringe pump* mengambil 100 μL reagen asetat-formaldehid pada pos 4 dengan laju alir 10 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Kemudian *syringe pump* mengambil 50 μL larutan amonia untuk mengisi *line* pada pos 6 dengan laju alir 10 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Selanjutnya *syringe pump* mengambil 75 μL *reagent solution acetoacetanilide* untuk mengisi *line* pada pos 7 dengan laju alir 10 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Pada *holding coil* akan terbentuk segmen asetat formaldehid-amonia-*acetoacetanilide* yang selanjutnya dialirkan ke *reaction chamber* pada pos 1 untuk direaksikan dengan waktu reaksi 5 detik. Selanjutnya produk yang dihasilkan pada *reaction chamber* dialirkan menuju detektor melalui *line* pada pos 2 dengan laju alir 175 $\mu\text{L}/\text{detik}$.

d. Pendeteksian Larutan Amonia

Syringe valve diatur pada posisi *out* dan *syringe pump* mengambil 100 μL larutan reagen asetat-formaldehid dengan laju alir 10 $\mu\text{L}/\text{detik}$ dari pos 4 menuju *holding coil*. Selanjutnya *syringe pump* mengambil 50 μL larutan amonia dari pos 6 dengan laju alir 10 $\mu\text{L}/\text{detik}$ menuju *holding coil*. Kemudian *syringe pump* mengambil 75 μL reagen *solution acetoacetanilide* dengan laju alir 10 $\mu\text{L}/\text{detik}$ dari pos 7. Pada *holding coil* akan terbentuk segmen asetat formaldehid-amonia-acetoacetanilide yang selanjutnya dialirkan ke *reaction chamber* pada pos 1 untuk direaksikan dengan waktu reaksi optimum. Selanjutnya produk yang dihasilkan dari *reaction chamber* dialirkan menuju detektor melalui *line* pada pos 2 dengan laju alir optimum dan diukur absorbansinya.



Gambar 3.1 Skema sistem SIA

Keterangan :

- 1 : Akuades
- 2 : Syringe pump
- 3 : Holding coil
- 4 : Pos 7 (*reagent solution AAA*)
- 5 : Pos 6 (Amonia)
- 6 : Pos 4 (reagen asetat-formaldehid)

- 7 : *Mixing tip*
8 : Detektor Spektrofotometer UV-Vis
9 : Limbah

3.4.4 Optimasi Parameter

a. Penentuan Segmentasi Optimum

Optimasi urutan segmentasi AAA menggunakan prosedur 3.4.3. Pada tahap ini, digunakan volume reagen asetat-formaldehid sebanyak 100 μL , larutan amonia 3 ppm sebanyak 50 μL , *reagen solution* AAA 0,05 M sebanyak 75 μL , waktu reaksi 60 detik, dan laju alir produk ke detektor 50 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Urutan segmentasi yang digunakan yaitu:

- Amonia-asetat formaldehid-AAA
- Amonia-AAA-asetat formaldehid
- Asetat formaldehid-amonia-AAA
- Asetat formaldehid-AAA-amonia
- AAA-asetat formaldehid-amonia
- AAA-amonia-asetat formaldehid

b. Penentuan Konsentrasi Optimum Reagen AAA

Optimasi konsentrasi *reagent solution* AAA menggunakan prosedur 3.4.3. Pada tahap ini, digunakan urutan segmentasi optimum, volume reagen asetat-formaldehid sebanyak 100 μL , larutan amonia 3 ppm sebanyak 50 μL , *reagen solution* AAA 0,05 M sebanyak 75 μL , waktu reaksi 60 detik, dan laju alir produk ke detektor 50 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Konsentrasi *reagen solution* AAA yang digunakan yaitu 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; dan 0,07 M.

c. Penentuan Waktu Reaksi Optimum

Optimasi waktu reaksi menggunakan prosedur 3.4.3. Pada tahap ini, digunakan urutan segmentasi optimum, volume reagen asetat-formaldehid sebanyak 100 μL , larutan amonia 3 ppm sebanyak 50 μL , *reagen solution* AAA dengan konsentrasi optimum sebanyak 75 μL , dan laju alir produk ke detektor 50 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Waktu reaksi yang digunakan yaitu 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 detik.

d. Penentuan Laju Alir Optimum

Optimasi laju alir menggunakan prosedur 3.4.3. Pada tahap ini, digunakan urutan segmentasi optimum, volume reagen asetat-formaldehid sebanyak 100 μL , larutan amonia 3 ppm sebanyak 50 μL , *reagen solution* AAA dengan konsentrasi optimum sebanyak 75 μL , dan waktu reaksi optimum. Laju alir yang digunakan yaitu 50,75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, dan 250 $\mu\text{L}/\text{detik}$.

3.4.5 Pembuatan Kurva Baku

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan menggunakan alat SIA sesuai prosedur yang telah dijelaskan sebelumnya pada semua kondisi optimum. Konsentrasi amonia yang digunakan adalah 0, 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Hasil absorbansi amonia yang diperoleh dari pengukuran dengan SIA di plotkan pada kurva dengan sumbu *x* adalah konsentrasi amonia dan sumbu *y* adalah absorbansi.

3.4.6 Pengukuran LOD

Pengukuran LOD (*Limit of Detection*) dilakukan dengan cara mengukur absorbansi blanko menggunakan perangkat alat SIA dan detektor spektrofotometer UV-Vis dengan 10 kali ulangan, kemudian absorbansi yang dihasilkan di *plot* pada kurva baku yang didapat.

3.4.7 Preparasi Sampel

Sampel limbah cair peternakan yang digunakan pada penelitian ini berasal dari tiga lokasi pengambilan sampel berikut :

1. Aliran limbah cair peternakan sapi di Laboratorium Lapangan Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya.
2. Aliran limbah cair peternakan sapi di Kecamatan Junrejo, Kota Batu.
3. Aliran limbah cair peternakan sapi di Kecamatan Dau, Kabupaten Malang.

Preparasi sampel limbah cair peternakan dilakukan dengan cara pengambilan sampel pada tiga lokasi peternakan tersebut. Pada selang waktu satu jam setelah pengambilan sampel, sampel limbah cair disaring menggunakan kertas saring whatman nomor 42.

3.4.8 Pengukuran Kadar Amonia dalam Sampel dan Penentuan % Recovery

Pengukuran kadar amonia dalam sampel dilakukan menggunakan alat SIA sesuai prosedur 3.4.3 dengan kondisi optimum segmentasi, konsentrasi AAA, waktu reaksi, dan laju alir. Penentuan % *recovery* dilakukan dengan cara menambahkan amonia standar 20 ppm pada setiap sampel sebanyak 5 μ L kemudian diukur kembali dengan alat SIA.

3.4.9 Analisis Data

a. Perhitungan Persamaan Korelasi Linear dan Koefisien Korelasi

Persamaan regresi linear yang digunakan untuk pembuatan kurva baku kadmium adalah sebagai berikut:

$$y = ax + b \quad (3.1)$$

y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi larutan kadmium yang terukur. Nilai koefisien a dan b dihitung dengan persamaan 3.2 dan 3.3

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{\sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (3.2)$$

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n} - a \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (3.3)$$

Sedangkan koefisien korelasi menggunakan persamaan 3.4

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{\sqrt{(\sum_{i=1}^n x_i^2) \sum_{i=1}^n y_i^2}} \quad (3.4)$$

b. Perhitungan Nilai Rata-rata

Setelah dilakukan beberapa kali pengulangan pengukuran absorbansi dan didapatkan konsentrasi pada kondisi optimum, nilai rata-rata konsentrasi dapat ditentukan dengan persamaan 3.5

$$RSD = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} \quad (3.5)$$

Keterangan :

\bar{x} = nilai rata-rata x_1

x_n = data pengulangan ke-n

n = banyaknya pengulangan

c. Perhitungan Standar Deviasi

Perhitungan standar deviasi dan standar deviasi relatif digunakan untuk mengetahui ketelitian dari data-data absorbansi larutan sampel yang telah diperoleh dengan persamaan 3.6 dan 3.7

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \tag{3.6}$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \tag{3.7}$$

d. Perhitungan Limit Deteksi

Limit deteksi (LOD) dapat ditentukan menggunakan persamaan 3.8

$$(SA)LOD = S_{reag} + z \sigma_{reag} \tag{3.8}$$

Hasil (SA)LOD yang diperoleh kemudian diplotkan ke dalam persamaan regresi linier kurva baku antara konsentrasi sampel terhadap absorbansi sehingga didapatkan nilai LOD asam asetat dengan menggunakan persamaan 3.9 dan 3.10

$$y = ax + b \tag{3.9}$$

$$(SA)LOD = a \cdot LOD + b \tag{3.10}$$

Keterangan :

(SA)LOD = Sinyal analit saat limit deteksi

S_{reag} = absorbansi reagen blanko

Z = factor accounting

σ_{reag} = standar deviasi untuk larutan blanko

LOD = limit deteksi

e. Perhitungan Kadar Amonia

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran sampel limbah cair yang diperoleh di kawasan peternakan tanpa pengenceran. Kadar amonia dapat dihitung dengan mensubstitusikan nilai absorbansi yang terukur pada persamaan 3.11

$$y = ax + b \tag{3.11}$$

Dimana :

y = absorbansi

x = kadar amonia

f. Perhitungan % Recovery

Nilai % *recovery* dapat ditentukan berdasarkan konsentrasi amonia dalam sampel dan konsentrasi amonia setelah penambahan larutan amonia standar, sehingga % *recovery* dapat dihitung menggunakan persamaan 3.12

$$\% Recovery = \frac{C_{total} - C_{ditambah}}{C_{sampel}} \times 100\% \quad (3.12)$$

Keterangan:

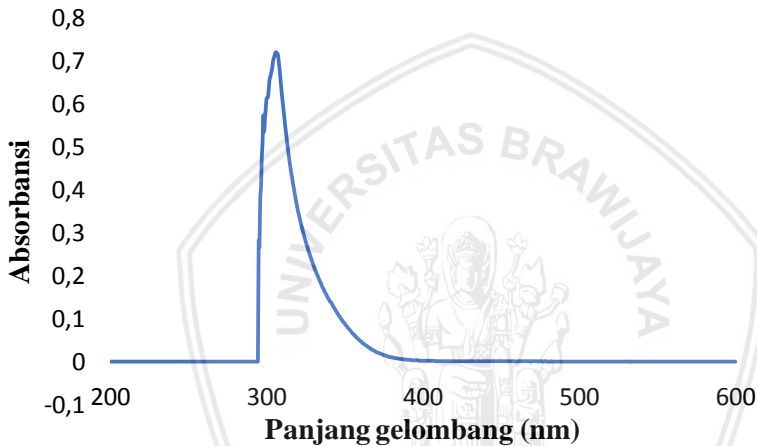
- C_{total} : konsentrasi setelah penambahan larutan standar
- $C_{ditambah}$: konsentrasi larutan standar yang ditambahkan
- C_{sampel} : konsentrasi sampel



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui daerah panjang gelombang yang memberikan serapan paling besar terhadap produk yang terbentuk dari hasil reaksi antara amonia dengan reagen asetat-formaldehid dan *acetoacetalilide*. Pada range panjang gelombang 200 – 600 nm, absorbansi maksimum produk reaksi diperoleh pada panjang gelombang 307 nm dengan spektra seperti pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Spektra produk reaksi antara amonia, asetat-formaldehid, dan *acetoacetanilide* pada λ 200 – 600 nm

Pembentukan produk dari hasil reaksi antara amonia dengan kedua reagen yang digunakan pada penelitian ini didasarkan pada reaksi hantzsch, yaitu reaksi antara komponen asetoasetat, benzaldehid, dan amonia. Reaksi Hantzsch ini melibatkan siklisasi gugus amina, aldehyd, dan β -diketon membentuk produk berwarna kuning yang merupakan derivat dihidropiridin.

Pada penelitian ini, reaksi Hantzsch dimanfaatkan dengan memodifikasi komponen-komponen reaksinya, kecuali amonia. Benzaldehid yang merupakan sumber aldehyd diganti dengan formaldehyd dalam bentuk *reagen solution* asetat-formaldehid.

Sedangkan ester asetoasetat yang merupakan sumber gugus β -diketon diganti dengan *acetoacetanilide* dalam bentuk *reagen solution* dalam pelarut etanol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Qiong Li, *acetoacetanilide* dilaporkan sebagai reagen yang memiliki koefisien ekstingsi paling besar dibandingkan beberapa reagen lain yang merupakan sumber β -diketon sehingga memiliki sensitivitas yang lebih tinggi. Selain itu, penggunaan *acetoacetanilide* memungkinkan reaksi Hantzsch dapat berlangsung pada suhu ruang sehingga tidak memerlukan pemanasan.

4.2 Optimasi Parameter

4.2.1 Penentuan Segmentasi Optimum

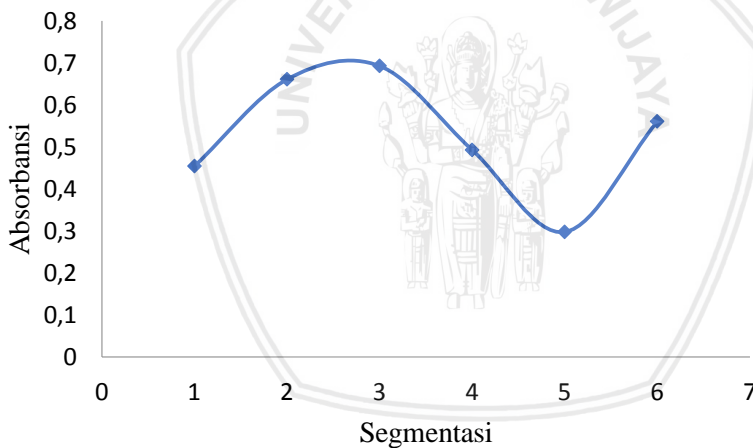
Kondisi optimum urutan segmen pembentukan produk reaksi Hantzsch dapat diketahui dari nilai absorbansi yang terukur pada spektrofotometer UV-Vis. Optimasi urutan segmen perlu dilakukan agar diketahui urutan segmen yang paling efektif sehingga produk reaksi Hantzsch dapat terbentuk secara optimum. Pada penentuan amonia dengan sistem SIA ini, terdapat tiga komponen yang diinjeksikan, yaitu larutan amonia/sampel, *reagent solution* AAA, dan reagen asetat-formaldehid, sehingga terdapat enam cara seperti yang tertera pada tabel 4.1 untuk menginjeksikan komponen-komponen tersebut membentuk segmentasi yang berbeda pada *mixing coil*. Hasil optimasi segmentasi ditunjukkan pada gambar 4.2.

Tabel 4.1 Tipe Segmentasi

Tipe	Urutan segmen
1	Amonia – asetat formaldehid – AAA
2	Amonia – AAA – asetat formaldehid
3	Asetat formaldehid – amonia – AAA
4	Asetat formaldehid – AAA – amonia
5	AAA – asetat formaldehid – amonia
6	AAA – amonia – asetat formaldehid

Berdasarkan gambar 4.2 dapat dilihat bahwa urutan segmen yang berbeda memberikan absorbansi yang berbeda secara signifikan. Absorbansi tertinggi diperoleh pada tipe segmentasi 3, yaitu ketika segmentasi yang terbentuk adalah asetat formaldehid-amonia-AAA. Kondisi optimum segmentasi tersebut dapat dijelaskan

berdasarkan mekanisme reaksi Hantzsch yang ditunjukkan pada lampiran K. Pada reaksi Hantzsch yang melibatkan dua mol *acetoacetanilide*, satu mol *acetoacetanilide* akan bereaksi terlebih dahulu dengan satu mol amonia, sedangkan satu mol *acetoacetanilide* yang lain akan bereaksi dengan satu mol asetat-formaldehid. Selanjutnya, kedua tipe intermediet yang terbentuk akan mengalami *cyclodehidration* membentuk turunan dihidropiridin. Dengan urutan segmen asetat formaldehid-amonia-AAA, maka amonia yang lebih dulu kontak dengan AAA akan bereaksi lebih cepat membentuk produk intermediet pertama. Selanjutnya, karena AAA dibuat berlebih, maka sisa AAA yang tidak habis bereaksi dengan amonia akan bereaksi dengan asetat-formaldehid membentuk produk intermediet kedua. Kemudian, kedua produk intermediet yang terbentuk akan mengalami reaksi *cyclodehidration* membentuk produk reaksi Hantzsch yang merupakan turunan dihidropiridin.



Gambar 4.2 Grafik hubungan antara segmentasi dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch. Kondisi : konsentrasi AAA 0,05 M, waktu reaksi 60 detik, dan laju alir menuju detektor 50 $\mu\text{L}/\text{detik}$

Apabila dalam segmentasi yang terbentuk, AAA berada diantara amonia dan asetat-formaldehid, maka reaksi pembentukan kedua intermediet akan berlangsung secara bersamaan. Dengan

demikian, amonia yang ada dalam sampel tidak dapat dipastikan habis bereaksi sehingga produk yang terbentuk tidak dapat menginterpretasikan jumlah amonia total dalam sampel. Hal tersebut dibuktikan dengan absorbansi yang terukur pada kondisi segmen dimana AAA berada diantara amonia dan asetat-formaldehid. Pada gambar 4.1, dapat dilihat bahwa absorbansi pada tipe segmentasi 2 dan 4 dimana AAA berada diantara amonia dan asetat-formaldehid lebih rendah dibandingkan absorbansi pada tipe segmentasi 4 dimana amonia berada diantara asetat-formaldehid dan AAA.

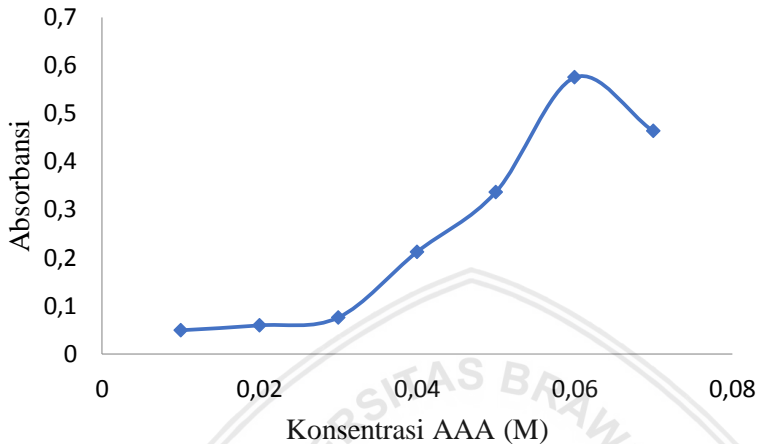
Sementara itu, apabila dalam segmentasi yang terbentuk, AAA dan amonia dipisahkan oleh asetat-formaldehid, maka absorbansi yang terukur akan semakin rendah. Hal itu ditunjukkan pada gambar 4.1, dimana tipe segmentasi 1 dan 5 memiliki absorbansi terendah. Asetat-formaldehid yang lebih dulu kontak dengan AAA akan bereaksi membentuk produk intermediet pertama. Karena jumlah asetat-formaldehid dalam sistem reaksi dibuat berlebih, maka AAA akan bereaksi dengan sejumlah asetat-formaldehid yang tersedia, sehingga AAA yang tersisa untuk kemudian bereaksi dengan amonia hanya dalam jumlah kecil atau bahkan tidak ada sehingga produk reaksi Hantzsch yang terbentuk akan sangat kecil atau bahkan tidak terbentuk.

4.2.2 Penentuan Konsentrasi Optimum AAA

Penentuan konsentrasi optimum AAA dilakukan untuk mengetahui konsentrasi AAA yang dibutuhkan untuk bereaksi dengan amonia dan asetat-formaldehid sehingga produk reaksi Hantzsch dapat terbentuk secara sempurna. Konsentrasi AAA yang optimum dapat dilihat dari tinggi peak atau nilai absorbansi yang menunjukkan intensitas produk reaksi Hantzsch yang terbentuk. Konsentrasi AAA yang digunakan yaitu 0,01 – 0,1 M. Hasil optimasi konsentrasi AAA ditunjukkan pada gambar 4.3.

Berdasarkan gambar 4.3, variasi konsentrasi yang diukur absorbansinya dengan sistem SIA adalah 0,01 – 0,08 M karena pada konsentrasi 0,09 M dan 0,1 M, AAA membentuk endapan berwarna putih dengan asetat-formaldehid sehingga tidak dapat digunakan sebagai reagen dalam penentuan amonia. Pembentukan endapan putih tersebut dapat dijelaskan berdasarkan kelarutan AAA dalam air dan etanol sesuai hasil penelitian pada lampiran L.H.2. Sementara

itu, berdasarkan absorbansi yang terukur pada berbagai konsentrasi AAA, diperoleh kondisi optimum konsentrasi AAA sebesar 0,06 M yang ditandai dengan nilai absorbansi tertinggi.



Gambar 4.3 Grafik hubungan antara konsentrasi AAA dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch. Kondisi : segmentasi asetat formaldehid-amonia-AAA, waktu reaksi 60 detik, dan laju alir menuju detektor 50 $\mu\text{L}/\text{detik}$

Berdasarkan hasil penelitian ini, konsentrasi AAA berbanding lurus dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch hingga konsentrasi AAA 0,06 M. Artinya, semakin tinggi konsentrasi AAA, maka produk reaksi Hantzsch yang terbentuk akan semakin banyak sehingga absorbansi meningkat. Hubungan antara konsentrasi AAA dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch dapat dijelaskan berdasarkan kecukupan AAA untuk bereaksi dengan amonia. AAA merupakan reaktan dalam reaksi Hantzsch, dengan demikian secara teoritis peningkatan konsentrasi AAA dapat menggeser kesetimbangan ke arah produk. Apabila konsentrasi AAA kecil, maka AAA tidak cukup untuk mengubah seluruh amonia yang terdapat dalam sistem menjadi produk reaksi Hantzsch. Sementara itu, apabila konsentrasi AAA meningkat, maka lebih banyak amonia yang dapat dikonversi menjadi produk reaksi Hantzsch. Kemudian pada konsentrasi AAA 0,06 M, absorbansi tidak mengalami kenaikan

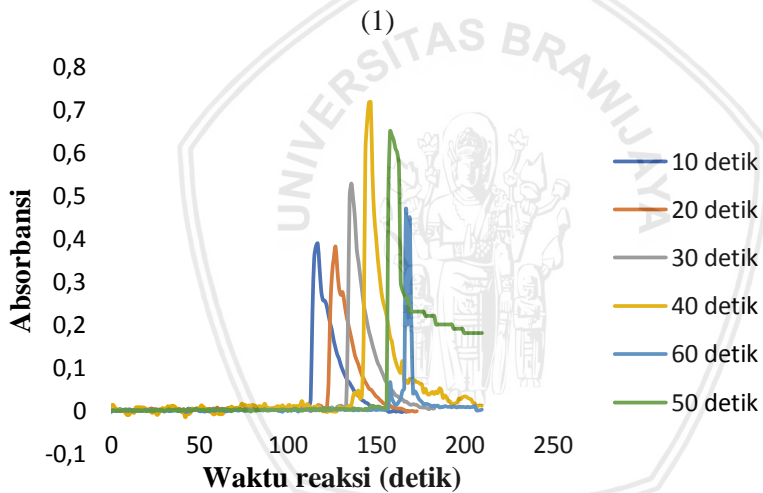
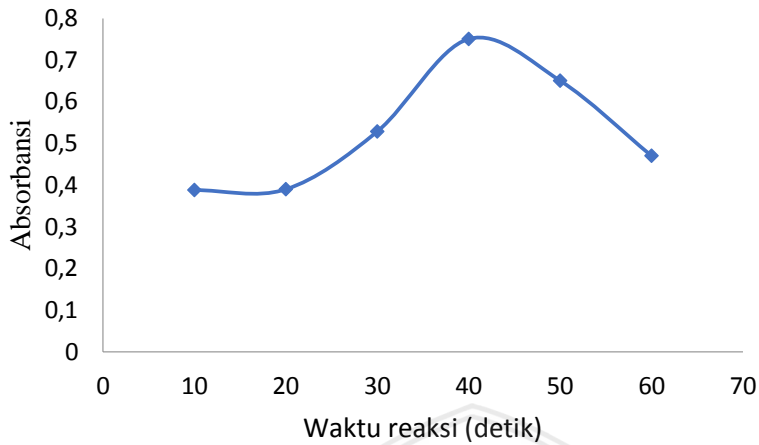
lagi. Hal itu berarti bahwa reaksi Hantzsch telah mencapai kesetimbangan dan seluruh amonia yang terdapat dalam sistem telah habis bereaksi.

4.2.3 Penentuan Waktu Reaksi Optimum

Penentuan waktu reaksi optimum dilakukan untuk mengetahui waktu paling optimum yang dibutuhkan untuk pembentukan produk reaksi Hantzsch secara sempurna. Waktu reaksi yang digunakan yaitu 10 – 60 detik. Hasil optimasi waktu reaksi ditunjukkan pada gambar 4.4.

Berdasarkan gambar 4.4, absorbansi tertinggi yang menunjukkan kondisi optimum diperoleh pada waktu reaksi 40 detik. Pada waktu reaksi 10-20 detik, kenaikan absorbansi sangat kecil atau cenderung konstan. Kemudian pada waktu reaksi 30 – 40 detik, absorbansi mengalami kenaikan secara signifikan. Jadi, secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa pada waktu reaksi 10 – 40 detik, waktu reaksi berbanding lurus dengan absorbansi. Artinya semakin lama reaksi Hantzsch berlangsung, maka produk yang dihasilkan akan semakin banyak. Pada waktu reaksi kurang dari 40 detik, dalam hal ini 10 – 30 detik, reaksi Hantzsch belum berlangsung secara sempurna sehingga produk reaksi Hantzsch (turunan dihidropiridin) belum terbentuk secara keseluruhan. Dengan kata lain, waktu reaksi 10 – 30 detik tidak cukup untuk berlangsungnya satu siklus reaksi Hantzsch sesuai jumlah amonia yang terdapat dalam larutan.

Waktu reaksi 40 detik merupakan kondisi optimum karena pada waktu reaksi tersebut, reaksi Hantzsch berlangsung sempurna dan seluruh amonia yang terdapat dalam sampel habis bereaksi dengan asetat formaldehid dan AAA. Secara teoritis, pada waktu reaksi optimum tersebut reaksi Hantzsch telah mencapai kesetimbangan sehingga tidak ada lagi penambahan produk yang terbentuk. Dengan kata lain, setelah waktu reaksi 40 detik, absorbansi produk reaksi Hantzsch yang terukur akan konstan.



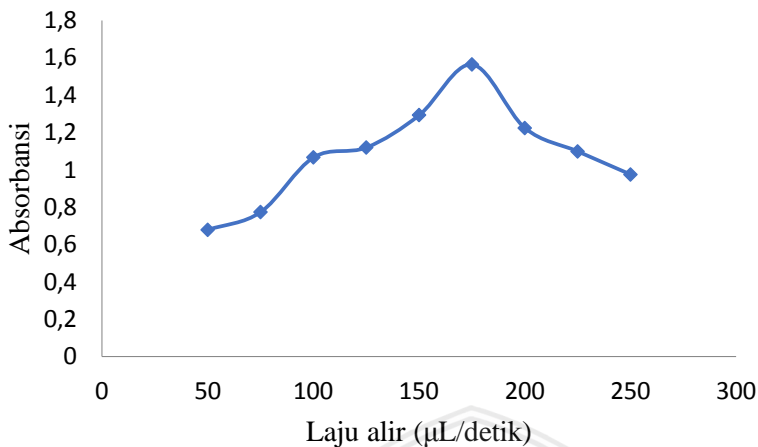
Gambar 4.4 Grafik (1) dan SIA-gram (2) hubungan antara waktu reaksi dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch. Kondisi : urutan segmen asetat formaldehi-amonia-AAA, konsentrasi AAA 0,06 M, dan laju alir menuju detektor 50 $\mu\text{L/detik}$

Akan tetapi, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada waktu reaksi lebih dari 40 detik, absorbansi produk yang terukur tidak konstan. Pada waktu reaksi 50 detik, absorbansi menurun dan peak yang terbentuk mengalami *tailing*. Sedangkan pada waktu reaksi 60 detik, absorbansi lebih rendah lagi dan peak yang terbentuk mengalami *splitting*. Terjadinya *tailing* dan *splitting* dengan absorbansi yang lebih rendah dari kondisi optimum ini mengindikasikan terjadinya penurunan konsentrasi produk reaksi Hantzsch. Apabila merujuk pada sifat produk reaksi Hantzsch yang berupa turunan dihidropiridin, penurunan konsentrasi tersebut dapat disebabkan oleh dekomposisi produk reaksi Hantzsch. Lebih lanjut, dekomposisi tersebut merupakan dekomposisi oleh cahaya matahari karena *mixing tip* tempat berlangsungnya reaksi tersebut memiliki permukaan yang tembus cahaya atau transparan.

4.2.4 Penentuan Laju Alir Optimum Menuju Detektor

Penentuan laju alir produk menuju detektor dilakukan dengan melakukan variasi laju alir menuju detektor. Optimasi laju alir ini perlu dilakukan karena laju alir produk menuju detektor mempengaruhi cepat lambatnya proses analisis dan bentuk pita serapan. Variasi laju alir yang digunakan yaitu 50 – 250 $\mu\text{L}/\text{detik}$. Hasil optimasi laju alir ditunjukkan pada gambar 4.5.

Dari gambar 4.5, diketahui bahwa laju alir yang optimum adalah 175 $\mu\text{L}/\text{detik}$ karena pada laju alir tersebut dihasilkan absorbansi yang paling tinggi, bentuk peak tajam, tidak terbentuk *tailing*, dan waktu deteksi tersebut relatif sangat cepat. Jika laju alir produk menuju detektor terlalu lambat, akan terjadi dispersi produk reaksi Hantzsch ke dalam *carrier* yang berupa akuades sehingga terjadi pengenceran yang menyebabkan penurunan konsentrasi produk reaksi Hantzsch. Akibatnya, absorbansi produk yang terukur akan lebih kecil serta akan dihasilkan *tailing* pada *peak* atau pita serapan yang muncul. Sementara itu, pada laju alir di atas 175 $\mu\text{L}/\text{detik}$, absorbansi mengalami penurunan karena apabila laju alir terlalu cepat, menyebabkan produk tidak dapat terdeteksi secara tepat oleh detektor serta menyebabkan tekanan balik. Adanya tekanan balik juga akan menyebabkan produk terdispersi sehingga konsentrasi produk reaksi Hantzsch menurun.

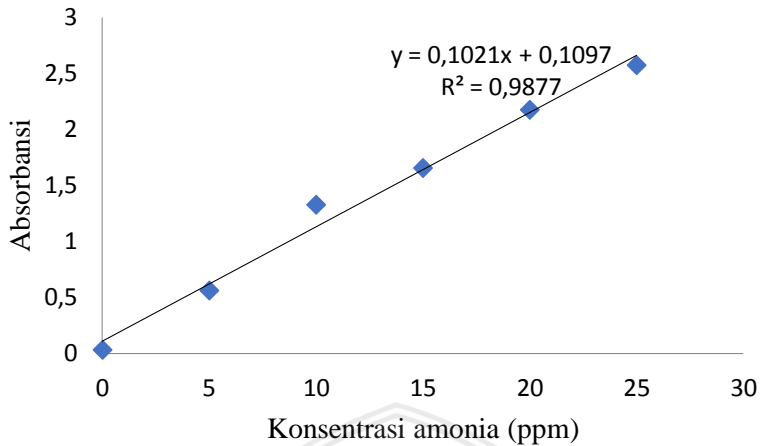


Gambar 4.5 Grafik hubungan antara waktu reaksi dengan absorbansi produk reaksi Hantzsch. Kondisi : urutan segmen asetat formaldehid-amonias-AAA, konsentrasi AAA 0,06 M, dan laju alir menuju detektor 50 μL/detik

4.3 Pembuatan Kurva Baku

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan mengukur absorbansi dari produk reaksi Hantzsch dengan konsentrasi amonia sebesar 0-25 ppm. Pengukuran absorbansi menggunakan semua kondisi optimum parameter yang telah ditentukan, yaitu urutan segmen, konsentrasi AAA, waktu reaksi, dan laju alir menuju detektor. Hasil dari pengukuran kurva baku ditunjukkan pada gambar 4.6.

Berdasarkan kurva baku yang ditunjukkan pada gambar 4.6, diperoleh persamaan korelasi linear $y = 0,1021x + 0,1097$ dengan koefisien relasi (R) sebesar 0,9877, dimana y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan konsentrasi amonia yang diperoleh. Persamaan kurva baku tersebut selanjutnya digunakan untuk perhitungan kadar amonia dalam sampel serta penentuan limit deteksi. Limit deteksi (S/N=3) dari larutan blanko (n=10) yang diperoleh berdasarkan kurva baku yaitu sebesar 0,194 ppm.



Gambar 4.6 Kurva baku produk reaksi Hantzsch

4.4 Pengukuran Amonia pada Sampel

Pada penelitian ini, pengukuran kadar amonia pada sampel dilakukan menggunakan metode SIA. Sampel yang digunakan berasal dari tiga kawasan peternakan di Kabupaten Malang, yaitu aliran limbah Laboratorium Lapang Fakultas Peternakan UB (sampel 1), aliran limbah peternakan warga di Kecamatan Junrejo Kota Batu (sampel 2), dan aliran limbah peternakan warga di Kecamatan Dau Kabupaten Malang (Sampel 3). Hasil dari pengukuran kadar amonia pada sampel ditunjukkan pada tabel 4.2.

Absorbansi sampel yang telah diukur menggunakan detektor spektrofotometer UV-Vis disubstitusikan dalam persamaan kurva baku $y = 0,1021x + 0,1097$ dengan koefisien korelasi (R) sebesar 0,9877. Dari tabel 4.1 dapat diketahui bahwa limbah cair peternakan di tiga lokasi sampling memiliki kandungan amonia di bawah ambang batas yang diperbolehkan berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014 tentang baku mutu air limbah peternakan, yaitu 11,580 ppm; 6,780 ppm; dan 6,660 ppm. Akan tetapi, apabila aliran limbah cair ini bermuara pada sungai dan kadar amonia dalam limbah cair tersebut belum mengalami penurunan, maka kadar amonia tersebut dikategorikan sebagai pencemar lingkungan karena konsentrasi tersebut berada di atas ambang batas amonia yang diperbolehkan pada sungai kelas 1

berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air. Pada peraturan tersebut, ambang batas amonia yang diperbolehkan adalah sebesar 0,5 mg/liter untuk sungai kelas 1.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran amonia pada sampel

Sampel	Konsentrasi amonia ditambahkan (ppm)	Konsentrasi amonia diperoleh (ppm)	SD	% Recovery
A	0,00	11,58	0,128	-
	2,00	12,76	0,003	92,9%
B	0,00	6,78	0,075	-
	2,00	8,76	0,045	99,7%
C	0,00	6,66	0,067	-
	2,00	8,25	0,068	93,8%

Berdasarkan hasil pengukuran kadar amonia pada sampel limbah cair di kawasan peternakan, metode SIA dapat direkomendasikan sebagai metode penentuan amonia. Hal ini dikarenakan metode ini dilakukan dengan waktu analisis yang cepat, yaitu selama 155 detik dan memiliki sensitivitas yang tinggi dengan volume sampel maupun reagen yang sangat kecil. Akurasi metode SIA dengan reagen *acetoacetanilide* tersebut dibuktikan dengan % *recovery* yang tinggi. % *recovery* ditentukan dengan cara menambahkan larutan standar amonia 20 ppm sebanyak 10 μ L ke dalam masing-masing sampel yang telah diukur sebelumnya sehingga dapat diketahui perbedaan konsentrasi sampel sebelum dan setelah penambahan amonia standar. Berdasarkan hasil perhitungan pada lampiran E.2 diperoleh % *recovery* sebesar 95,5%.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kondisi optimum pengukuran kadar amonia menggunakan metode SIA berdasarkan reaksi Hantzsch yaitu pada urutan segmen asetat formaldehid – amonia – *acetoacetanilide* (AAA), konsentrasi AAA 0,06 M, waktu reaksi 40 detik, dan laju alir menuju detektor 175 $\mu\text{L}/\text{detik}$.
2. Metode SIA berdasarkan Reaksi Hantzsch memiliki sensitivitas yang tinggi dalam pengukuran amonia, yaitu memiliki limit deteksi (LOD) sebesar 0,194 ppm.
3. Pengukuran kadar amonia menggunakan metode SIA berdasarkan reaksi Hantzsch dengan reagen *acetoacetanilide* dapat diaplikasikan pada limbah cair di kawasan peternakan dengan waktu analisis yang cepat (155 detik) serta validitas tinggi yang ditandai dengan % *recovery* sebesar 95,5%.

5.2 Saran

Diharapkan untuk penelitian selanjutnya :

1. Dilakukan optimasi terhadap parameter perbandingan volume injeksi sampel dan reagen serta konsentrasi formaldehid.
2. Dilakukan uji selektifitas terhadap ion pengganggu.
3. Dilakukan derivatisasi lebih lanjut dari produk reaksi Hantzsch agar bergeser ke panjang gelombang *visible* sehingga sensitivitas lebih tinggi lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. N. S. E. N. Dessy Irfi Jayanti, "Analisis Kadar Amoniak di Udara dan Sanitasi Peternakan serta Keluhan Kesehatan pada Pekerja di Peternakan Ayam di Desa Sei Limbat Kecamatan Selesai Kabupaten Langkat," *Jurnal Lingkungan dan Kesehatan Kerja*, vol. 3, p. 1, 2014.
- [2] S. Rusdiana, "Analisis Ekonomi Usaha Ternak Sapi Potong Berbasis Agroekosistem di Indonesia," *Junran Sosial Ekonomi dan Kebijakan Pertanian*, vol. 5, p. 138, 2016.
- [3] F. Fakhri, "Melihat Potensi yang ada, Presiden Jokowi ingin Peternakan Indonesia Mampu Bersaing dengan Negara lain," *Okezone.com*, Jakarta, 2017.
- [4] E. S. M. H. Ramadhian Latief, "Pengaruh Jumlah Kotoran Sapi Terhadap Konsentrasi Gas Amonia (NH₃) di dalam Rumah," *Jurnal Teknik Lingkungan*, Vol. %1 dari %23, No. 1, p. 1, 2014.
- [5] R. J. T. A. K. M. W. L. Dadan Sumiarsa, "Perbaikan Kualitas Limbah Cair Peternakan Sapi Perah oleh Spirulina Sp.," *Jurnal Akuatika*, Vol. %1 dari %22, No. 2, pp. 91-92, 2011.
- [6] P. H. Fianda Revina Widyastuti, "Upaya Pengelolaan Lingkungan Usaha Peternakan Sapi di Kawasan Usaha Tani Terpadu Bangka Botanical Garden Pangkalpinang," *Jurnal Pengelolaan SDA*, vol. 1, pp. 1-2, 2013.
- [7] A. R. P. Muhamad Hibban, "Studi Penurunan Konsentrasi Amonia dalam Limbah Cair Domestik dengan Teknologi Biofilter Aerobmedia Tubular Plastik pada Awal Pengolahan," *Jurnal Teknik Lingkungan*, Vol. %1 dari %25, No. 2, p. 2, 2016.
- [8] H. W. A. S. D. L. Renmin Liu, "Reversed Flow Injection Spectrophotometric Determination of Trace Amount of Amonia in Natural Water by Oxidation of Amonia to Nitrite," *Journal of Talanta*, vol. 45, p. 405, 1997.
- [9] E. T. M. P. T. K. G. Z. A. A. Georgia Giakisikli, "An Integrated Sequential Injection Analysis System for Ammonium

Determination in Recycled Hygiene and Potable Water Samples for Future Use in Manned Space Missions,” *Microchemical Journal*, vol. 133, p. 491, 2017.

- [10] H. S. P. Vishwanath M. Sardesai, “A Fluorometric Procedure for the Determination of Ammonia in Blood,” *Microchemical Journal*, vol. 14, p. 551, 1969.
- [11] S. L. A.C. Adityawarman, “Pengolahan Limbah Ternak Sapi Secara Sederhana di Desa Pattalassang Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan,” *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Pertanian*, vol. 3, p. 171, 2015.
- [12] U. P. B. P. Lidyasanty O. Linggotu, “Pengelolaan Limbah Kotoran Ternak dalam Upaya Pencegahan Pencemaran Lingkungan di Kota Kotamobagu,” *Jurnal Zootehnik*, vol. 36 No.1, p. 226, 2016.
- [13] U. P. B. P. Lidyasanty O. Linggotu, “Pengelolaan Limbah Kotoran Ternak dalam Upaya Pencegahan Pencemaran Lingkungan di Kota Kotamobagu,” *Jurnal Zootehnik*, vol. 36, pp. 226-237, 2016.
- [14] F. A. Cotton, *Kimia Anorganik Dasar*, Jakarta: UI-Press, 1989.
- [15] H. Effendi, *Telaah Kualitas Air bagi Pengelola Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*, Jakarta: Kanisius, 2003.
- [16] Sutomo, “Pengaruh Amonia Terhadap Ikan dalam Budidaya Sistem Tertutup,” *Jurnal Oseanografi*, vol. 14, p. 24, 1989.
- [17] M. L. Hidup, “Baku Mutu Air Limbah Industri Peternakan,” dalam *Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia tentang Baku Mutu Air Limbah*, Jakarta, 2014.
- [18] H. W. A. S. D. L. Renmin Liu, “Reversed Flow Injection Spectrophotometric Determination of Trace Amount of Ammonia in Natural Water by Oxidation of Ammonia to Nitrite,” *Journal of Talanta*, vol. 45, p. 405, 1997.
- [19] M. D. L. d. Castro, “Flow Injection Analysis: a New Tool to Automate Extraction Processes,” *Journal of Clinical Laboratory*

Automation, vol. 8 No.2, p. 56, 1986.

- [20] U. S. H. Mana, "Rapid and Selective Determination of Ammonium by Fluorimetric Flow Injection Analysis," *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 366, no. 8, p. 825, 2000.
- [21] E. T. M. P. T. K. G. Z. A. A. Georgia Giakisiklia, "An Integrated Sequential Injection Analysis System for Ammonium Determination in Recycled Hygiene and Potable Water Samples for Future Use in Manned Space Missions," *Journal of Microchemical*, vol. 133, p. 490, 2017.
- [22] P. D. Tzanavaras, "Sequential Injection Analysis: A useful Analytical Tool in Drug Dissolution Testing," *Journal of Pharmaceutica Analytica Acta*, vol. 3, no. 5, p. 114, 2012.
- [23] C. C. O. C. W. L. Yuwadee Boonyasit, "Simple Spectrophotometric Sequential Injection Analysis System for Determination of Serum Calcium," *American Journal of Analytical Chemistry*, vol. 3, p. 132, 2012.
- [24] S. K. Hartwell, "Flow Injection/Sequential Injection Analysis Systems: Potential Use as Tools for Rapid Liver Diseases Biomarker Study," *International Journal of Hepatology*, vol. 2012, p. 281807, 2011.
- [25] S. K. J. S. S. Anil Saini, "Hantzsch Reaction : Recent Advances in Hantzsch 1,4-dihydropyridines," *Journal of Scientific and Industrial Research*, vol. 67, p. 95, 2008.
- [26] M. O. S. M. Qiong Li, "Flow-Injection Spectrofluorometric Determination of Trace Amounts of Formaldehyde in Water After Derivatization with Acetoacetanilide," *Journal of Talanta*, vol. 72, p. 1675, 2007.
- [27] A. Whitaker, "Acetoacetanilide Colorants: Intramolecular Bonding and Their Relationship with Pyrazolone Colorants," *Journal of Coloration Technology*, vol. 112, no. 1, p. 17, 1996.
- [28] R. A. Ibrahim, "Uses Of Acetoacetanilide for the Synthesis of Thiophene," *Journal of the Chemical Society of Ethiopia*, vol.

31 No.3, p. 521, 2017.

- [29] M. F. S. T. Y. M. Tadesse Haile Fereja, "UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Quantification of Ciprofloxacin in Tablets Dosage Form," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 2, no. 1, p. 1, 2015.
- [30] S. G. F. A. S. S. a. S. B. Siladitya Behera, "UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation," *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, vol. 03, no. 06, p. 4, 2012.

