

LAMPIRAN

Lampiran 1

Cara Pembuatan Reagensia Pengujian

A. Reagen nitrit

1. Air suling bebas nitrit

Air suling yang dibuat dengan cara ozonisasi terhadap air demineralisasi.

2. Larutan sulfanilamida ($\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$)

- a. Menimbang 5 gram sulfanilamida
- b. Melarutkan dalam campuran 300 mL air suling dan 50 mL HCl pekat.
- c. Mengencerkan dengan air suling sampai 500 mL.
- d. Memasukkan dalam botol gelap, disimpan pada suhu ruang.

3. Larutan NED Dihidroklorida.

- a. Menimbang 500 mg N-(1-naphthyl)-ethylene diamine dihydrochloride (NED Dihidroklorida)
- b. Melarutkan dalam 500 mL air suling dalam labu ukur.
- c. Memasukkan dalam botol gelap, disimpan dalam refrigerator. Mengganti setiap bulan atau bila warna reagen berubah menjadi berwarna coklat.

B. Reagen nitrat

1. Air bebas nitrat.

Air suling yang telah mengalami 2 kali penyulingan.

2. Pembuatan larutan HCl 1N:

HCl 37% = 37 gr/100gr

Berat molekul HCl : 36,46 g/mol

Densitas HCl 37% : 1,19 g/mL

Molaritas = $\frac{\% \text{HCl} \times \text{Densitas} \times 1000 \text{ ml}}{\text{Berat molekul HCl}}$

Berat molekul HCl

$$= \frac{37 \text{ gr}/100\text{gr} \times 1,19 \text{ gr}/\text{ml} \times 1000 \text{ ml}/\text{L}}{36,46}$$

36,46

$$= 12,08 \text{ mol/L}$$

N = M × Faktor ekuivalen

Jika kita memiliki larutan HCl dengan molaritas 1 M, maka normalitas HCl juga akan menjadi 1 N karena faktor ekuivalen HCl adalah 1.

Rumus pengenceran untuk menghitung volume HCl 37% yang dibutuhkan:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan:

N_1 = Normalitas HCl 37% (12.08 N)

V_1 = Volume HCl 37% yang dibutuhkan (mL)

N_2 = Normalitas larutan akhir (1N)

V_2 = Volume larutan akhir (misalnya, 250 mL)

Jadi, jika kita ingin membuat 1 liter larutan HCl 1N:

$$12.08 \times V_1 = 1 \times 250$$

$$V_1 = \frac{250}{12.08}$$

$$= 20,69$$

$$= 20,69 \text{ ml}$$

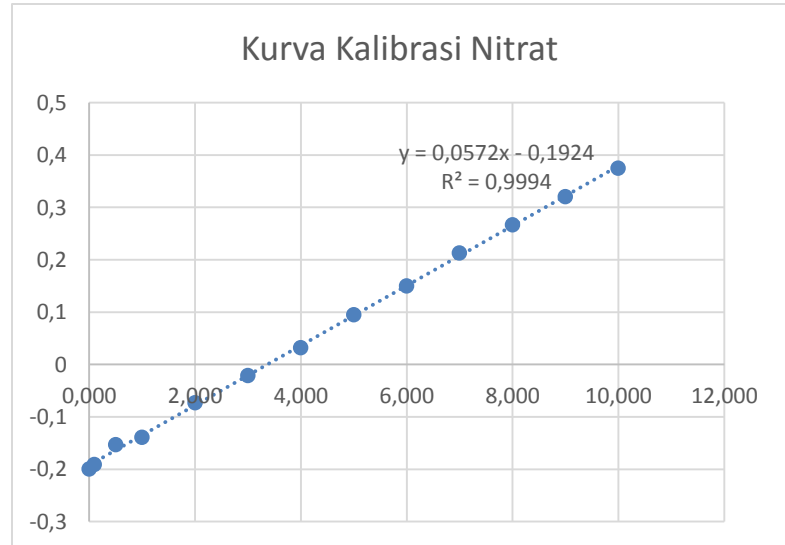
1. Memipet 20,69 ml HCl 37%
2. Memasukkan dalam labu ukur 250 ml
3. Menambahkan aquadest bebas nitrat sampai tanda tera
4. Memasukkan dalam botol gelap, larutan disimpan pada suhu ruang.

Lampiran 2

Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi nitrat

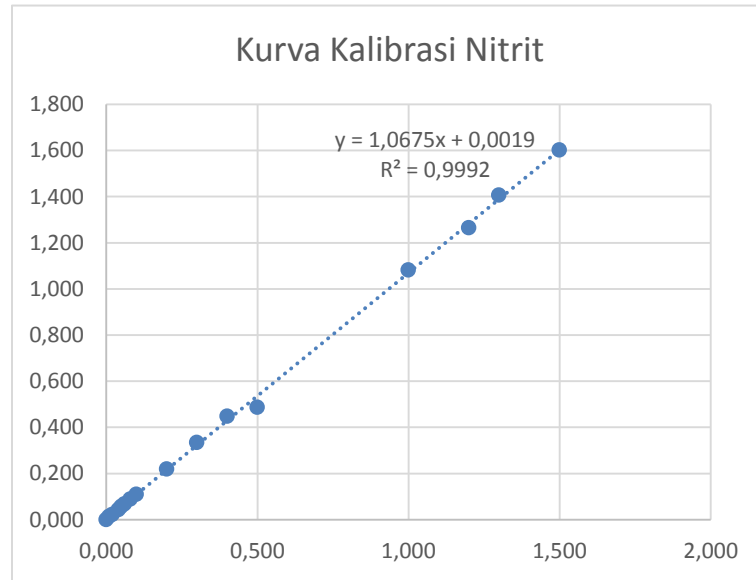
Kadar x	Absorban y
0,000	-0,199
0,100	-0,191
0,500	-0,153
1,000	-0,139
2,000	-0,073
3,000	-0,021
4,000	0,032
5,000	0,095
6,000	0,15
7,000	0,213
8,000	0,267
9,000	0,321
10,000	0,375



Kadar x	Absorban y
0,000	0,000
0,010	0,014
0,020	0,022
0,040	0,043
0,050	0,057
0,060	0,068
0,080	0,089
0,100	0,110
0,200	0,219
0,300	0,334
0,400	0,448
0,500	0,487
1,000	1,082
1,200	1,265
1,300	1,407

1,500	1,602
-------	-------

Kurva kalibrasi nitrit



Lampiran 3

Penetapan Kadar Nitrat dan Nitrit

Hasil Penetapan Kadar Nitrat

Nomor Sampel	Pengawet		Tanpa Pengawet	
	Absorbansi	Konsentrasi (C)	Absorbansi	Konsentrasi (C)
1	-0,130	1,082	-0,054	2,492
2	-0,134	1,013	-0,058	2,121
3	-0,148	0,773	-0,118	1,296
4	-0,143	1,014	0,079	4,762
5	-0,080	1,961	0,063	4,499
6	-0,104	1,538	-0,076	2,038
7	0,057	4,377	0,202	6,956
8	-0,119	1,279	0,109	5,295
9	0,063	4,484	0,210	7,067
10	-0,164	0,492	-0,127	1,138
11	-0,119	1,279	0,100	5,125
12	-0,051	5,768	0,078	7,971
13	-0,160	3,896	-0,138	4,271
14	-0,156	3,963	-0,145	4,167
15	-0,153	4,023	-0,146	4,143
16	-0,152	4,039	-0,147	4,120
17	-0,138	4,271	-0,123	4,535
18	-0,151	4,055	-0,146	4,138
19	0,063	4,499	0,202	6,956
20	-0,080	1,961	-0,001	3,664
21	-0,076	2,037	0,057	4,377
22	-0,001	3,364	0,139	5,824
23	-0,155	0,0631	0,001	3,368
24	0,841	18,227	1,353	27,297
25	1,432	28,651	2,247	43,064
26	1,383	27,779	2,310	44,159
27	0,207	7,018	0,547	13,059
28	-0,064	2,218	0,149	6,006
29	0,423	10,862	0,910	19,481
30	-0,107	1,468	0,042	4,236
31	0,042	4,139	0,204	7,107
32	-0,122	1,192	0,038	4,064
33	0,133	5,086	0,491	12,072

Ket : fp (faktor pengenceran) sampel air bersih adalah 1.

Hasil Penetapan Kadar Nitrit

Nomor Sampel	Pengawet		Tanpa Pengawet	
	Absorbansi	Konsentrasi	Absorbansi	Konsentrasi
1	0,007	0,005	0,043	0,039
2	0,048	0,044	0,122	0,113
3	0,002	0,001	0,012	0,010
4	0,009	0,007	0,024	0,021
5	0,010	0,009	0,018	0,016
6	0,006	0,005	0,037	0,034
7	0,012	0,010	0,037	0,034
8	0,055	0,050	0,149	0,139
9	0,003	0,001	0,029	0,026
10	0,005	0,004	0,052	0,048
11	0,024	0,022	0,111	0,103
12	0,015	0,010	0,037	0,030
13	0,007	0,002	0,028	0,022
14	0,008	0,003	0,021	0,015
15	0,032	0,025	0,193	0,176
16	0,062	0,054	0,194	0,177
17	0,009	0,004	0,099	0,088
18	0,014	0,009	0,016	0,011
19	0,313	0,292	0,898	0,839
20	0,007	0,005	0,048	0,043
21	0,051	0,046	0,097	0,089
22	0,011	0,006	0,515	0,477
23	0,018	0,012	1,610	1,502
24	0,040	0,035	1,339	1,249
25	0,006	0,004	0,095	0,086
26	0,016	0,013	0,086	0,078
27	0,027	0,023	0,955	0,892
28	0,008	0,005	0,015	0,012
29	0,040	0,036	0,233	0,216
30	0,179	0,166	0,385	0,369
31	0,015	0,012	0,032	0,028
32	0,945	0,824	1,665	1,558
33	0,007	0,005	0,018	0,015

Ket : fp (faktor pengenceran) sampel air bersih adalah 1.

Bandar Lampung, Juni 2024
Mengetahui,
Koordinator Ruang Kesmas

Meirita Yanti, SKM
NIP.197105221992012001

Peneliti

Irma Lizza
NIM.2313353072

Lampiran 4

Output data dengan program SPSS

1. Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Kadar Nitrat pada Sampel Air dengan dan tanpa Pengawet

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
Transform_Pengawet	Mean	,4712	,07596	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,3165	
		Upper Bound	,6259	
	5% Trimmed Mean	,4576		
	Median	,5906		
	Variance	,190		
	Std. Deviation	,43633		
	Minimum	-,31		
	Maximum	1,46		
	Range	1,77		
	Interquartile Range	,55		
	Skewness	,477	,409	
	Kurtosis	,090	,798	
	Transform_TanpaPengawet	Mean	,7478	,06381
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	,6178	
		Upper Bound	,8777	
5% Trimmed Mean		,7353		
Median		,6566		
Variance		,134		
Std. Deviation		,36658		
Minimum		,06		
Maximum		1,65		
Range		1,59		
Interquartile Range		,24		
Skewness		,787	,409	
Kurtosis		1,065	,798	

2. Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Kadar Nitrit pada Sampel Air dengan dan tanpa Pengawet

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
Tranform_Pengawet	Mean	-1,8962	,11363	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-2,1277	
		Upper Bound	-1,6648	
	5% Trimmed Mean	-1,9257		
	Median	-2,0000		
	Variance	,426		
	Std. Deviation	,65275		
	Minimum	-3,00		
	Maximum	-,08		
	Range	2,92		
	Interquartile Range	,85		
	Skewness	,797	,409	
	Kurtosis	,894	,798	
	Tranform_TanpaPengawet	Mean	-1,0915	,11493
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	-1,3256	
		Upper Bound	-,8574	
5% Trimmed Mean		-1,1129		
Median		-1,1079		
Variance		,436		
Std. Deviation		,66025		
Minimum		-2,00		
Maximum		,19		
Range		2,19		
Interquartile Range		,91		
Skewness		,572	,409	
Kurtosis		-,707	,798	

3. Uji Normalitas

Tests of Normality Nitrate

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Transform_Pengawet	,126	33	,200	,952	33	,154
Tranform_TanpaPengawet	,176	33	,011	,918	33	,016

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality Nitrite

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Tranform_Pengawet	,130	33	,169	,948	33	,117
Tranform_TanpaPengawet	,119	33	,200*	,930	33	,036

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

4. Uji T-Test Berpasangan (*Paired Sample T-Test*)

T-Test sampel air bersih Nitrat dengan dan tanpa pengawet

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Transform_Pengawet	,4712	33	,43633	,07596
	Tranform_TanpaPengawet	,7478	33	,36658	,06381

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Transform_Pengawet & Tranform_TanpaPengawet	33	,895	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)
		Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Mean	Lower	Upper			
Pair 1	Transform_Pengawet & Tranform_TanpaPengawet							

Pair 1	Transform_ Pengawet - Transform_ TanpaPengawet	-,27656	,19642	,03419	-,34621	-,20691	-8,088	32	,000
--------	--	---------	--------	--------	---------	---------	--------	----	------

T-Test Nitrit sampel air bersih dengan dan tanpa pengawet

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Tranform_ Pengawet	-1,8962	33	,65275	,11363
	Tranform_ TanpaPengawet	-1,0915	33	,66025	,11493

Paired Samples Correlations






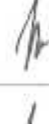

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Tranform_ Pengawet & Tranform_ TanpaPengawet	33	,708	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Tranform_ Pengawet - Transform_ TanpaPengawet	-,80472	,50189	,08737	-,98268	-,62676	-9,211	32	,000

Lampiran 5

LOG BOOK PENELITIAN

No	Hari, Tanggal	Kegiatan	Hasil	Paraf
1	Selasa 12 Desember 2023	Melakukan pembuatan larutan standar Nitrat dan Nitrit Mencari panjang gelombang maksimum pemeriksaan Nitrat dan Nitrit Membuat kurva kalibrasi pemeriksaan Nitrat dan Nitrit Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 4 sampel air bersih	Didapatkan larutan deret standar Nitrat dan Nitrit Didapatkan panjang gelombang maksimal pemeriksaan nitrat dan nitrit Didapatkan kurva kalibrasi pemeriksaan Nitrat dan Nitrit Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	
2	Selasa 30 Januari 2024	Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 3 sampel air bersih	Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	
3	Senin 12 Februari 2024	Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 4 sampel air bersih	Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	
4	Kamis 14 Maret 2024	Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 7 sampel air bersih	Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	
5	Rabu 20 Maret 2024	Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 3 sampel air bersih	Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	
6	Rabu 24 April 2024	Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 5 sampel air bersih	Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	
7	Rabu 29 Mei 2024	Melakukan pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit pada 7 sampel air bersih	Didapatkan hasil pemeriksaan kadar Nitrat dan Nitrit	

Bandar Lampung, Juni 2024
Mengetahui
Pembimbing Utama



Dr. Agus Purnomo, S.Si., MKM.
NIP.197008311996031003

Lampiran 6

Dokumentasi Kegiatan Penelitian



1. Pengambilan sampel air bersih



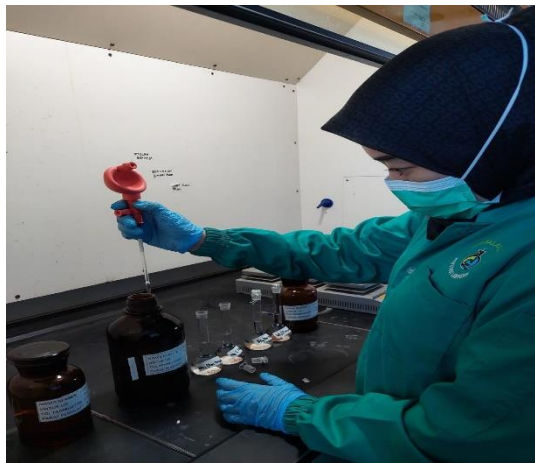
2. Penambahan pengawet $H_2SO_4(p)$



3. proses pemeriksaan sampel



4. Sampel Nitrat dan Nitrit



5. Penambahan Reagensia



6. Proses Pembacaan Kadar Sampel pada spektrofotometer UV-Vis

KARTU BIMBINGAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK
PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN AKADEMIK 2023-2024

Nama Mahasiswa : Irma Lizza
 NIM : 2313353072
 Judul SKRIPSI : Pengaruh Penambahan Pengawet pada Sampel Air
 Terhadap Kadar Nitrat dan Nitrit
 Pembimbing Utama : Dr. Agus Purnomo, S.Si., MKM

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	Paraf
1	5 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	Wf
2	8 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	Wf
3	11 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	Wf
4	15 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	Wf
5	18 Januari 2024	Acc Seminar Proposal		Wf
6	26 Februari 2024	- Metodologi Penelitian - cara kerja	Perbaikan	Wf
7	5 Maret 2024	Metodologi Penelitian	Perbaikan	Wf
8	25 Maret 2024	Acc Penelitian		Wf
9	14 Mei 2024	Bab IV dan V	Perbaikan	Wf
10	21 Mei 2024	Bab IV dan V	Perbaikan	Wf












No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	Paraf
11	4 Juni 2020	Bab IV dan V	Perbaikan	Wf
12	6 Juni 2020	Bab IV dan V	Perbaikan	Wf
13	10 Juni 2020	Acc Seminar Hasil		Wk
14	25 Juni 2020	Perbaikan Pasca Seminar Hasil	Perbaikan	Wf
15	27 Juni 2020	Acc Cetakan		Wf

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan

Nurminha, S.Pd., M.Sc

KARTU BIMBINGAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK
PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN AKADEMIK 2023-2024

Nama Mahasiswa : Irma Lizza
 NIM : 2313353072
 Judul SKRIPSI : Pengaruh Penambahan Pengawet pada Sampel Air Terhadap Kadar Nitrat dan Nitrit
 Pembimbing Pendamping : Sri Nuraini, S.Pd., M.Kes.

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	Paraf
1	3 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	
2	5 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	
3	8 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	
4	12 Januari 2024	Bab I, II, III	Perbaikan	
5	15 Januari 2024	Acc Seminar Proposal		
6	26 Februari 2024	Metodologi Penelitian	Perbaikan	
7	27 Maret 2024	Metodologi Penelitian	Perbaikan	
8	1 April 2024	Acc Penelitian		
9	14 Mei 2024	Bab IV dan V	Perbaikan	
10	22 Mei 2024	Bab IV dan V	Perbaikan	
11	29 Mei 2024	Bab IV dan V	Perbaikan	

12	5 Juni 2024	Acc Seminar Hasil		2
13	25 Juni 2024	Perbaikan Pasca Seminar Hasil	Perbaikan	2
14	26 Juni 2024	Acc Cetak		2
15				

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan



Nurminha, S.Pd., M.Sc

PENGARUH PENAMBAHAN PENGAWET PADA SAMPEL AIR BERSIH TERHADAP PEMERIKSAAN NITRAT DAN NITRIT

Irma Lizza¹, Agus Purnomo², Sri Nuraini³

¹UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung

^{2,3}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan
Politeknik Kesehatan Kemenkes Tanjungkarang

ABSTRAK

Air memiliki peran penting dalam kehidupan dan pengawetan sampel air sangat penting untuk analisis kimia dan mikrobiologi yang akurat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan pengawet H₂SO₄ hingga pH < 2 terhadap kadar nitrat dan nitrit dalam sampel air bersih. Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis sesuai SNI 3554-2015. Sampel air dibagi menjadi dua kelompok: satu kelompok diberi pengawet dan yang lainnya tidak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar nitrat pada sampel tanpa pengawet memiliki rata-rata 8,500 mg/L, sedangkan dengan pengawet adalah 5,105 mg/L. Kadar nitrit pada sampel tanpa pengawet rata-rata 0,258 mg/L dan dengan pengawet 0,053 mg/L. Hasil analisis statistik dengan uji T berpasangan menunjukkan adanya perbedaan kadar nitrat dan nitrit yang diberi pengawetan dan tidak diberi pengawetan pada sampel air bersih, dengan korelasi masing-masing 89,5% dan 70,8%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah penambahan pengawet H₂SO₄ dalam sampel air bersih berpengaruh secara signifikan terhadap kadar nitrat dan nitrit.

Kata Kunci: Pengawetan air, kadar nitrat, kadar nitrit, spektrofotometri, H₂SO₄

THE EFFECT OF PRESERVATIVE ADDITION ON CLEAN WATER SAMPLES FOR NITRATE AND NITRITE ANALYSIS

ABSTRACT

Water plays a crucial role in life, and preserving water samples is essential for accurate chemical and microbiological analysis. This study aims to determine the effect of adding H₂SO₄ preservative to pH < 2 on nitrate and nitrite levels in clean water samples. The method used was laboratory experimentation with UV-Vis spectrophotometry according to SNI 3554-2015. Water samples were divided into two groups: one group was given a preservative, and the other was not. The results showed that the nitrate levels in samples without preservative averaged 8.500 mg/L, while those with preservative averaged 5.105 mg/L. The nitrite levels in samples without preservative averaged 0.258 mg/L and with preservative 0.053 mg/L. The results of statistical analysis using the paired T test showed that there were differences in the levels of nitrate and nitrite treated and unpreserved in clean water samples, with a correlation of 89.5% and 70.8% respectively. The conclusion of this research is that the addition of H₂SO₄ preservative to clean water samples has a significant effect on nitrate and nitrite levels.

Keywords: Patient satisfaction, TAT, laboratory examination.

*Korespondensi: Irma Lizza, Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan Kemenkes Tanjungkarang, Jalan Soekarno-Hatta No.1 Hajimena Bandar Lampung, mobile 08117911106, e-mail imatudie8@gmail.com

Pendahuluan

Air memiliki peran utama dalam keberlangsungan makhluk hidup dengan sekitar 98% tubuh makhluk hidup terdiri dari air. Planet Bumi sendiri sebagian besar terdiri dari air, mencakup sekitar 71% permukaan bumi dalam bentuk lautan. Air memiliki kemampuan untuk berubah bentuk menjadi uap air, es, cairan, atau salju. Sumber air tawar terutama terdapat di badan air daratan yang terhubung dengan laut melalui siklus hidrologi atmosfer yang berkelanjutan. Gangguan pada siklus air atau ketidakseimbangan hidrologi dapat berdampak luas pada lingkungan, memengaruhi sanitasi, kesehatan manusia, dan mengurangi ketersediaan cadangan air (Suyasa, 2014).

Penelitian di laboratorium merupakan bagian integral dari layanan kesehatan yang mendukung upaya peningkatan kesehatan, pencegahan dan pengobatan penyakit, serta pemulihan kesehatan baik pada tingkat individu maupun masyarakat sebagaimana diatur oleh Kementerian Kesehatan Nomor 1792 tahun 2010. Penelitian laboratorium dapat mencakup bidang klinis dan juga laboratorium kesehatan masyarakat, di mana parameter yang diuji umumnya melibatkan aspek fisika, mikrobiologi, dan kimia dari sampel air.

Senyawa nitrogen seperti nitrit, nitrat, dan amonia dalam air terbentuk secara alami melalui proses metabolisme organisme perairan dan penguraian material organik oleh bakteri (Indrayani et al., 2015). Nitrat yang ditemukan dalam sumber air seperti sumur gali dan sungai umumnya berasal dari pencemaran bahan kimia seperti pupuk urea, ZA, dan sejenisnya di bagian hulu sungai. Pencemaran ini seringkali disebabkan oleh penggunaan pupuk nitrat yang tinggi, terutama melalui proses pencucian dan aliran permukaan. Di beberapa negara seperti India dengan tingkat pemakaian pupuk N sekitar 20-30%, Filipina 25%, dan Indonesia 52-71%, pencemaran nitrat menjadi isu serius. Nitrat dan nitrit dapat menimbulkan efek racun akut seperti methemoglobinemia, di mana lebih dari 10% hemoglobin diubah menjadi methemoglobin. Jika konversi ini melebihi 70%, dampaknya dapat fatal. Pengaruh nitrit

dalam jumlah besar terhadap tubuh manusia mencakup gangguan gastrointestinal, diare berdarah disertai konvulsi, dan koma yang jika tidak ditangani dengan cepat dapat berujung pada kematian. Keracunan kronis juga dapat menyebabkan depresi umum dan sakit kepala (Abdurrivai, 2017).

Pengawetan sampel air melibatkan serangkaian tindakan dengan tujuan menjaga kualitas air tetap stabil selama perjalanan dari lokasi pengambilan sampel ke laboratorium serta selama penyimpanan di laboratorium sebelum dilakukan analisis. Pada saat pengambilan sampel, langkah-langkah penting harus diambil untuk mempertahankan integritas sampel dan mencegah kontaminasi atau perubahan yang tidak diinginkan. Untuk mencapai tujuan ini, bahan pengawet ditambahkan ke dalam sampel sesuai dengan parameter yang akan diuji. Penambahan bahan pengawet bertujuan untuk menghambat perubahan mikrobiologi, kimia, dan fisika terhadap parameter yang akan dianalisis sehingga sampel tetap stabil dalam jangka waktu tertentu (Hadi, 2023).

Ketika melakukan pengujian terhadap konsentrasi nitrat dalam suatu sampel, langkah pertama adalah menyimpan sampel air yang akan diuji sesuai dengan standar SNI 8995 tahun 2021. Penyimpanan dilakukan dalam wadah berbentuk botol plastik (polietilen) atau kaca. Sampel nitrat dan nitrit diawetkan dengan menambahkan H_2SO_4 pekat hingga mencapai $pH < 2$ dengan umur simpan sampel selama 28 hari pada suhu $4^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$. Pengawetan ini, baik melalui pengasaman maupun pendinginan, bertujuan untuk mencegah perubahan analit dalam sampel akibat reaksi kimia atau faktor biologis seperti aktivitas mikroba dalam sampel air (Miefthawati, 2014). Namun di lapangan, seringkali pengambil atau pengirim sampel tidak melaksanakan pengawetan pada sampel air yang akan diuji, yang dapat berpotensi mempengaruhi kadar nitrat dan nitrit dalam sampel air.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pengawet terhadap sampel air bersih terhadap kadar nitrat dan nitrit.

Materi dan Metode

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pengawet H₂SO₄(p) hingga mencapai pH kurang dari 2 terhadap kadar nitrat dan nitrit pada sampel air bersih. Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*. Penelitian dilakukan di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung dari bulan Desember 2023 hingga April 2024. Populasi penelitian ini adalah semua sampel air bersih yang diambil oleh petugas sampling UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung. Sampel dipilih menggunakan teknik *purposive sampling*, mencakup seluruh populasi sampel air bersih yang diberi dan tidak diberi pengawet H₂SO₄.

Alat yang digunakan meliputi spektrofotometer UV-Vis, botol sampel polietilen 500 ml, pH meter, dan berbagai pipet dan labu ukur. Bahan yang digunakan antara lain H₂SO₄ pekat, air bebas nitrat dan nitrit, larutan standar nitrat dan nitrit, serta berbagai reagen kimia lainnya.

Sampel diambil dengan cara mengalirkan air dari kran selama 1-2 menit, membilas botol sampel, menampung sampel ke dalam dua botol, dan menambahkan pengawet H₂SO₄ pada salah satu botol. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk uji nitrat dan nitrit.

Data dianalisis menggunakan analisis univariat dan bivariat. Analisis univariat melihat distribusi data, sedangkan analisis bivariat menggunakan uji-T berpasangan untuk mengetahui perbedaan kadar nitrat dan nitrit. Analisis dilakukan dengan software SPSS versi 27.0 dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil

Hasil Analisa Univariat

Pada penelitian ini sampel air bersih yang diuji berjumlah 33 sampel. Pada awal pengambilan sampel dibagi menjadi 2, yaitu satu sampel ditambahkan pengawet H₂SO₄ sampai pH < 2 dan satu sampel tidak diberikan pengawet, lalu diukur kadar nitrat dan nitrit menggunakan spektrofotometer UV-Vis di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

Tabel Distribusi Perbedaan Kadar Nitrat pada Sampel Air Bersih

	Nitrat	
	Pengawet	Tanpa Pengawet
Mean (mg/L)	5,10	8,50
Min (mg/L)	0,49	1,14
Max (mg/L)	28,67	44,16
SD	6,87	10,44
<i>p value</i>	0,00	0,00
Skewness	2,706	2,687

Tabel Distribusi Perbedaan Kadar Nitrit pada Sampel Air Bersih

	Nitrit	
	Pengawet	Tanpa Pengawet
Mean (mg/L)	0,05	0,26
Min (mg/L)	0,001	0,01
Max (mg/L)	0,82	1,56
SD	0,15	0,44
<i>p value</i>	0,00	0,00
Skewness	4,704	2,132

Berdasarkan hasil pengujian normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa data tidak terdistribusi dengan normal karena *p value* kurang dari 0,05 dan nilai *skewness* lebih dari 2, maka data dikategorikan *moderate positive skewness*. Lalu data yang ada dilakukan normalisasi dengan cara transformasi data menggunakan Log_{10(x)} atau Logaritme 10. Sehingga didapatkan data yang terdistribusi normal berikut ini:

Tabel 4.5 Hasil Normalisasi Data Kadar Nitrat dan Nitrit Sampel Air Bersih

	Nitrat		Nitrit	
	Pengawet	Tanpa Pengawet	Pengawet	Tanpa Pengawet
<i>p value</i>	0,154	0,016	0,117	0,036
Skewness	0,477	0,787	0,797	0,572

Hasil Analisa Bivariat

Berdasarkan hasil Analisa univariat didapatkan bahwa 2 variabel independent numerik yaitu kadar nitrat dan nitrit dengan pengawet dan kadar nitrat dan nitrit tanpa pengawet memenuhi kriteria distribusi normal, sehingga dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan analisis T-Test berpasangan (*Paired sample T-test*). Hasil analisis T-test berpasangan terhadap dua variabel yang bersifat numerik tersebut disajikan pada tabel berikut:

Tabel Hasil Analisis Paired sample T-Test Kadar Nitrat dan Nitrit dengan Pengawet dan Tanpa Pengawet Pada Sampel Air Bersih

Parameter	n	Mean	SD	Correlation	<i>p value</i>
Nitrat	33	-0,276	0,196	0,895	< 0,001
Nitrit	33	-0,804	0,501	0,708	< 0,001

Berdasarkan hasil analisis yang ditunjukkan pada tabel 4.6 didapatkan bahwa *p value* pemeriksaan nitrat adalah < 0,001 dan nitrit adalah < 0,001. Jika *p value* kurang dari 0,05, maka dapat diartikan bahwa terdapat pengaruh penambahan pengawet pada sampel air bersih terhadap pemeriksaan kadar nitrat dan nitrit.

Pembahasan

Pengawetan dalam sampel air merupakan proses yang sangat penting dalam pemeriksaan kualitas air untuk memastikan air tetap sesuai kondisi awal pengambilan atau representatif. Proses ini mencegah aktivitas fisik, kimia, dan mikroba yang ada di dalam air selama sampel dalam perjalanan atau sebelum sampel dikerjakan. Pengawetan sampel air dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya adalah dengan pengawetan kimia yaitu penambahan zat asam. (Hadi, 2024). Penambahan zat asam dapat menghambat

aktivitas metabolisme dan perkembangbiakan mikroorganisme yang dapat merubah kandungan zat kimia di dalam sampel air. Berdasarkan SNI 8995-2021 tentang Metode Pengambilan Contoh Uji Air untuk Pengujian Fisika Kimia, untuk pemeriksaan kadar nitrat dan nitrit sampel air bersih harus dilakukan pengawetan dengan menambahkan asam sulfat pekat ($H_2SO_{4(p)}$) sampai $pH > 2$ dengan waktu simpan maksimum yang direkomendasikan adalah 1-2 hari.

Pemeriksaan in situ terhadap nitrat dan nitrit adalah metode penting dalam monitoring kualitas air. Nitrat dan nitrit

adalah bentuk nitrogen yang sering ditemukan dalam air permukaan dan air tanah sebagai hasil dari proses alami dan aktivitas manusia seperti pertanian, pembuangan limbah industri, dan penggunaan pupuk. Pemeriksaan in situ mengacu pada analisis yang dilakukan langsung di lokasi pengambilan sampel, tanpa harus membawa sampel ke laboratorium. Parameter in situ untuk air bersih adalah berbagai indikator yang diukur langsung di lokasi pengambilan sampel untuk menilai kualitas air. Pengukuran ini membantu dalam memastikan bahwa air memenuhi standar kualitas untuk keperluan domestik, industri, atau ekologi. Berikut adalah beberapa parameter utama yang sering diukur in situ untuk menilai kualitas air bersih:

6. pH: pH air mempengaruhi bentuk nitrogen yang ada di dalam air. Pada pH yang lebih rendah, nitrit dapat diubah menjadi nitrat, sedangkan pada pH yang lebih tinggi, ammonia lebih dominan.
7. Suhu: Suhu mempengaruhi laju reaksi biokimia dalam air, termasuk nitrifikasi (konversi ammonia menjadi nitrit dan kemudian menjadi nitrat) dan denitrifikasi (konversi nitrat menjadi gas nitrogen). Reaksi ini biasanya lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi.
8. Kandungan Oksigen Terlarut (Dissolved Oxygen, DO): Nitrifikasi adalah proses aerobik yang memerlukan oksigen, sehingga konsentrasi oksigen terlarut yang cukup tinggi diperlukan untuk mengubah ammonia menjadi nitrit dan kemudian menjadi nitrat. Sebaliknya, denitrifikasi terjadi dalam kondisi anoksik (kekurangan oksigen).
9. Kehadiran Bahan Organik: Kehadiran bahan organik dalam air dapat mempengaruhi siklus nitrogen. Mikroorganisme yang menguraikan bahan organik juga dapat menggunakan nitrogen, mengubah bentuknya, dan mempengaruhi konsentrasi nitrat dan nitrit.
10. Total Padatan Terlarut (Total Dissolved Solids, TDS): TDS yang tinggi dapat menunjukkan adanya polutan terlarut, termasuk senyawa nitrogen. Konsentrasi ion yang tinggi dapat mempengaruhi

proses kimia dan biologis yang terkait dengan nitrat dan nitrit.

Nitrat dan nitrit adalah senyawa anorganik alami yang terbentuk dari proses aktivitas bakteri. Bakteri yang berperan dalam pembentukan nitrit adalah bakteri nitrifikasi (*Nitrosomonas, sp*) yang mengubah ammonia menjadi nitrit, lalu dioksidasi menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter, sp* dan *Nitrospina, sp*. (Titania, dkk. 2017). Nitrifikasi adalah proses oksidasi ammonia menjadi nitrit dan kemudian nitrat. Proses ini terjadi dalam dua tahap yang dilakukan oleh dua kelompok bakteri nitrifikasi:

3. Tahap pertama: Ammonia dioksidasi menjadi nitrit oleh bakteri nitrifikasi, seperti *Nitrosomonas*:



4. Tahap kedua: Nitrit dioksidasi menjadi nitrat oleh bakteri nitrifikasi, seperti *Nitrobacter*: $\text{NO}_2^- + \text{O}_2 \longrightarrow \text{NO}_3^-$

Pengaruh pengawetan terhadap nitrat dan Nitrit dapat dilihat dari stabilitas kimia yaitu nitrat relatif stabil dalam air tetapi dapat direduksi menjadi nitrat dan nitrit dapat dioksidasi menjadi nitrat atau teroksidasi oleh mikroorganisme. **Penggunaan pengawet asam sulfat (H_2SO_4) yang digunakan untuk mengawetkan sampel air untuk analisis nitrat dan nitrit dapat menurunkan pH air, menghambat aktivitas mikroorganisme, dan mencegah transformasi nitrat dan nitrit.**

Derajat keasamaan air (pH) memainkan peran penting dalam menghambat metabolisme bakteri karena mempengaruhi struktur dan fungsi molekul biologis serta aktivitas enzim dalam sel bakteri. (NZ Nisa. 2018). Contoh Pengaruh pH terhadap metabolisme bakteri:

5. Enzim

Enzim adalah protein yang bertindak sebagai katalis dalam reaksi metabolik. Aktivitas enzim sangat bergantung pada pH. Setiap enzim memiliki pH optimum di mana ia menunjukkan aktivitas maksimal. pH yang terlalu rendah (asam) atau terlalu tinggi (basa) dapat menyebabkan denaturasi enzim, yaitu perubahan bentuk dan struktur yang menyebabkan hilangnya aktivitas enzim. Denaturasi enzim menghambat reaksi

metabolik yang penting bagi pertumbuhan dan reproduksi bakteri. (Nurkhotimah, dkk. 2017)

6. Membran Sel

pH juga mempengaruhi integritas membran sel bakteri. Membran sel terdiri dari lipid bilayer yang bisa menjadi tidak stabil pada pH ekstrem. pH yang tidak sesuai dapat mengganggu transport nutrisi dan ion melalui membran sel, yang sangat penting untuk fungsi seluler normal.

7. Gradien Proton

Banyak bakteri menggunakan gradien proton (proton motive force) untuk menghasilkan ATP melalui proses yang disebut chemiosmosis. pH yang tidak sesuai dapat mengganggu gradien proton ini, sehingga menghambat produksi ATP dan, akibatnya, menghambat metabolisme seluler.

8. Metabolit dan Produk Akhir:

pH yang tidak sesuai dapat mempengaruhi keseimbangan asam-basa dalam sel, mengakibatkan akumulasi produk metabolit yang dapat menjadi toksik. Misalnya, pada pH yang sangat asam, asam organik yang diproduksi selama metabolisme dapat menumpuk dan menghambat pertumbuhan bakteri. (Peter A. Lund. 2020)

Pada penelitian ini, sampel air bersih diberikan pengawetan dengan penambahan asam sulfat pekat ($H_2SO_{4(p)}$) hingga pH kurang dari 2. Hasil univariat pada penelitian ini dapat dilihat dari hasil pemeriksaan kadar sampel air bersih yang berjumlah 33 sampel, didapatkan hasil pemeriksaan kadar nitrat dan nitrit yang tidak diberi pengawet dan yang diberikan pengawet terlihat berbeda kadarnya secara signifikan. Hasil nitrat yang diberi pengawet kadarnya lebih rendah dibandingkan kadar nitrat yang tidak diberikan pengawet. seperti halnya kadar nitrat. Kadar nitrit dalam sampel air bersih yang diberikan pengawet memiliki kadar lebih rendah dibandingkan kadar nitrit yang tidak diberikan pengawet. Hal ini dikarenakan aktivitas dan metabolisme bakteri terhambat oleh pengawet asam yang diberikan sehingga kadar nitrat dan nitrit dalam sampel tidak mengalami peningkatan.

Hasil Analisa bivariat digunakan untuk melihat hubungan antara variabel yang mempengaruhi. Berdasarkan tabel 4.3 dapat dilihat pengaruh pengawet pada sampel air bersih pada pemeriksaan kadar nitrat memperoleh korelasi sebesar 0,895 pada pemeriksaan nitrat yang artinya 89,5 % dari sampel air bersih yang diperiksa terpengaruh oleh penambahan pengawet dan 0,708 pada pemeriksaan nitrit yang artinya 70,8 % sampel air bersih terpengaruh oleh penambahan pengawet. Sedangkan pada pemeriksaan nitrat memperoleh p value $< 0,001$ dan pada pemeriksaan nitrit diperoleh p value $< 0,001$, apabila p value $< 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima yang berarti ada pengaruh penambahan pengawet pada sampel air bersih terhadap pemeriksaan kadar nitrat dan nitrit yang ditandai perbedaan kadar antara kadar sampel air bersih yang diberikan pengawet dan yang tidak diberikan pengawet.

Sejalan dengan penelitian sebelumnya tentang pengawetan sampel air oleh Li Creed JT di Inggris yang mengujikan pengaruh pengawet pada sampel air terhadap pemeriksaan logam menemukan bahwa logam berat dalam sampel air memerlukan pengawetan dengan penambahan asam untuk mencegah pengendapan. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa tanpa pengawetan yang tepat, konsentrasi logam berat seperti timbal dapat menurun dalam waktu dua minggu, tetapi dengan penambahan asam, stabilitas konsentrasi logam dapat dipertahankan hingga 180 hari.

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini menunjukkan bahwa pengawetan pada sampel air bersih sangat berpengaruh secara signifikan terhadap kadar nitrat dan nitrit. Hal itu dikarenakan pengawetan sampel air bersih dapat berdampak terhadap aktivitas mikroorganisme yang dapat meningkatkan kadar nitrat (NO_3) dan Nitrit (NO_2).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada sampel air bersih dengan penambahan pengawet H_2SO_4 hingga pH > 2 menggunakan metode SNI 3554-2015 secara

spektrofotometer UV-Vis, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kadar nitrat pada sampel air bersih yang tidak diberikan pengawet memiliki rata-rata 8,500 mg/L dan yang diberikan pengawet 5,105 mg/L. Sedangkan kadar nitrit pada sampel air bersih yang tidak diberikan pengawet memiliki rata-rata 0,258 mg/L dan yang diberikan pengawet 0,053 mg/L.
2. Dari hasil uji statistik menggunakan uji T berpasangan (*Paired T-Test*) antara sampel air bersih dengan dan tanpa pengawet pada nitrat memiliki korelasi 89,5 % sampel dipengaruhi oleh pengawet yang ditambahkan, sedangkan pada nitrit memiliki korelasi 70,8 % sampel. Hasil *p value* < 0,005 yang artinya penambahan pengawet pada sampel air bersih mempengaruhi hasil pemeriksaan kadar Nitrat (NO₃) dan Nitrit (NO₂) yang sangat signifikan.

Daftar Pustaka

- Abdurrivai, S. N. 2017. Hubungan Kandungan Nitrat (NO₃) dan Nitrit (NO₂) Pada Air Lindi Dengan Kualitas Air Sumur Gali Di Kel. Bangkala Kec. Manggala Kota Makassar. *Jurnal Sulolipu*.
- Afidin Zaenal., Kholidah, 2021. Analisis Kandungan Nitrat dan Nitrit Serta Total Bakteri Coliform Pada Air Sungai di PT. Sucofindo Semarang. Semarang: *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*.
- American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition, 2017
- Creed JT., Martin TD., Sivaganesan. 2005. Preservation of trace metals in water samples. *Journal of the United States Environmental Protection Agency*.
- Gunnars, Kris., 2020. Are Nitrates and Nitrites in Food is Harmfull.
- Hadi, Anwar. 2023. Pertimbangan Pengawetan Sampel Lingkungan. www.infolabling.com
- HR Talib. 2018. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Ion Nitrit Pada Air Galon Isi Ulang di Kecamatan Tembalang Kota Semarang
- Indrayani, E., Nitimulya, K.H., Hadisusanto, S., dan Rustadi, 2015. Analisis Kandungan Nitrogen, Fosfor dan Karbon Organik di Danau Sentani Papua. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*
- Kianpoor, Yusef, et all. 2019. Method for Sample Collection, Storage, and Analysis Freshwater Phosporus. MDPI.
- Krulwich, T. A., et al. 2011. Bacterial mechanisms to alleviate pH stress. *Journal Nature Reviews Microbiology*
- LY Stein, MG Klotz., 2016. The Nitrogen Cycle. *Journal Scientist Direct*
- Miefthawati PN. 2014. Analisa Penentuan Kualitas Air Tasik Bera Di Pahang Malaysia Berdasarkan Pengukuran Parameter Fisika-Kimia: *Jurnal Sains, Teknologi Dan Industri*. Vol.12, No1.
- Nurkhotimah, dkk. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi Universitas Negeri Yogyakarta*.
- Nz Nisa, dkk. 2018. Daya Hambat Perasan Jeruk Lemon (*Citrus Limun (L.) Burm.f.*) pada Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli. Studi di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Icme Jombang.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 1792/Menkes/SK/XII/2010. Tentang Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik.
- Peter A. Lund, et all. 2020. Understanding How Microorganisms Respond to Acid pH Is Central to Their Control and Successful Exploitation. *National Laboratory of Medichine*.
- Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan Institut Teknologi Bandung. 2020. Modul Praktikum *Laboratorium Lingkungan TL-3103*.
- Sodhi G.S. 2019. Konsep Dasar Kimia Lingkungan. Jakarta: EGC Medical Publisher. 633 halaman.

- Standar Nasional Indonesia (SNI) 8995:2021
tentang Metode Pengambilan Contoh
Uji Air Untuk Pengujian Fisika dan
Kimia.
- Standar Nasional Indonesia (SNI) 3554:2015
tentang Cara Pengujian Air Minum
Dalam Kemasan.
- Suyasa, W. B. 2014. Pencemaran dan
Pengolahan Air Limbah. Denpasar:
Udayana University Press.
- Tirta Hoetary, Amalia R.A, dkk. 2021.
Kandungan Nitrit dan Nitrat Pada
Kualitas Air Permukaan. Prosiding
SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri
Padang Volume 01 2021, hal 679-688.
- Titania dia; Agung Wahyu; Hanif Ahmad,
dkk. 2017 . Nitrogen Sutra. Program
Studi Teknik Produksi Benih Jurusan
Produksi Pertanian Politeknik Negeri
Jember
- Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A.,
Minorsky, P.V. and Orr, R. 2021.
Campbell Biology 12th Edition.
California: Pearson.

