

PENENTUAN NITRIT DALAM IKAN BAWAL PUTIH (*Pampus argenteus*) MENGGUNAKAN REAGEN 3-AMINA-7-DIMETILAMINA-2-METILFENAZIN HIDROKLORIDA DENGAN SPEKTROFOTOMETER VISIBLE

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



Susy Saadah

3325071960

PROGRAM STUDI KIMIA

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

2011

PERSETUJUAN PANITIA UJIAN SKRIPSI

PENENTUAN NITRIT DALAM IKAN BAWAL PUTIH (*Pampus argenteus*)
MENGUNAKAN REAGEN 3-AMINA-7-DIMETILAMINA-2-METILFENAZIN
HIDROKLORIDA DENGAN SPEKTROFOTOMETER VISIBEL

Nama : Susy Saadah

No. Reg : 3325071960

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab		7/2-2012
Dekan : <u>Dra. Marheni, M.Sc.</u> NIP.19500606 197412 2 001		
Wakil Penanggung Jawab		6.2.2012
Pembantu Dekan I : <u>Dr.rer.nat.Apriliana L.F, M.S., M.Ed.</u> NIP.19600408 199003 2 002		
Ketua : <u>Dra. Marheni, M.Sc.</u> NIP. 19500606 197412 2 001		3/2-2012
Sekretaris : <u>Drs. Darsef, M.Si.</u> NIP. 19650806 199003 1 004		8/2-2012
Anggota:		
Pembimbing I : <u>Dra. Tritiyatma H., M.Si.</u> NIP. 19611225 198701 2 001		8/2-2012
Pembimbing II : <u>Irma Ratna Kartika, M.Sc.Tech</u> NIP. 19721204 200501 2 001		9/2-2012
Penguji : <u>Irwan Saputra, M.Si</u> NIP. 19741018 200604 1 001		2/2-2012

Dinyatakan lulus ujian skripsi tanggal: 26 Januari 2012

ABSTRAK

SUSY SAADAH. Penentuan Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dengan Spektrofotometer Visibel. Skripsi. Jakarta: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. 2012

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida. Sampel ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) diperoleh dari hasil tangkapan nelayan Muara Angke. Kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) ditentukan menggunakan metode spektrofotometri. Dari hasil penelitian, diketahui bahwa, konsentrasi optimum reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida adalah 0,0021% (b/v). Kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* saat didiamkan selama satu hari adalah sebesar 5,388ppm, sedangkan tanpa melalui *freeze dry* adalah sebesar 4,085ppm. Kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* saat didiamkan selama empat belas hari adalah sebesar 28,89ppm, sedangkan tanpa melalui *freeze dry* adalah sebesar 18,53ppm. Semakin lama ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) didiamkan, maka konsentrasi nitrit yang terkandung semakin meningkat. Tidak terdapat perbedaan antara konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal (*Pampus argenteus*) yang mengalami proses *freeze dry* dan tidak mengalami proses *freeze dry*.

Kata kunci: Nitrit, ikan bawal putih, *Pampus argenteus*, 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida, *freeze dry*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa, atas segala limpahan nikmat-Nya. Hanya dengan izin dan pertolongan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “Penentuan Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dengan Spektrofotometer Visibel” disusun untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains.

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan dan bantuan dalam penyusunan skripsi ini, antara lain:

1. Ibu Dra. Tritiyatma, M.Si dan Ibu Irma Ratna Kartika, M.Sc.Tech sebagai dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Muktiningsih, M.Si selaku ketua jurusan kimia. Bapak Dr. Imam Santoso, M.Si selaku ketua prodi kimia. Bapak Setia Budi, M.Sc selaku pembimbing akademik, dosen-dosen kimia serta laboran yang telah memberikan banyak arahan dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Ir. Feri Kusnandar, M.Sc selaku ketua departemen teknik pangan Institut Pertanian Bogor yang telah memberikan saran dan kritik dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu Antin Suswantinah selaku laboran departemen teknik pangan Institut Pertanian Bogor yang telah banyak membantu selama penelitian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dan tak luput dari kesalahan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun.

Jakarta, Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah	3
C. Pembatasan Masalah	3
D. Perumusan Masalah	4
E. Tujuan Penelitian	4
F. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Kajian Teori	5
1. Nitrit	5
2. Efek Nitrit Terhadap Mahluk Hidup	9
3. Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>)	11
4. Senyawa 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	13
5. Spektrofotometer Visibel	15
B. Kerangka Berpikir	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tujuan Operasional	19
B. Tempat dan Waktu Penelitian	19
C. Metode Penelitian	19
D. Prosedur Penelitian	20
1. Alat dan Bahan	20

2. Cara Kerja	21
E. Teknik Pengumpulan Data	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Optimasi Konsentrasi 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	26
B. Pembuatan Kurva Kalibrasi	28
C. Preparasi Sampel Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>)	31
D. Hasil Pengolahan Data Secara Statistik	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	46
B. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Nutrisi Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>)	13
Tabel 2. Konsumsi Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>)	13
Tabel 3. Panjang Gelombang Cahaya Tampak dan Pewarnaannya	15
Tabel 4. Optimasi Konsentrasi Pada Penentuan Nitrit	24
Tabel 5. Pembuatan Kurva kalibrasi Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Nitrit Menggunakan Reagen 3-Amina-7- Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	24
Tabel 6. Penentuan Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	25
Tabel 7. Penentuan Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	25
Tabel 8. Optimasi Konsentrasi 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	27
Tabel 9. Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Nitrit Pada Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	29
Tabel 10. Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Nitrit Pada Reagen Griess	30
Tabel 11. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7- Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	33

Tabel 12. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	36
Tabel 13. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dengan Variasi Waktu Penyimpanan Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dan Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i>	39
Tabel 14. Hasil Analisis Uji t Tidak Berpasangan antara Konsentrasi Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dengan Variasi Waktu Penyimpanan Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dan Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Indeks Kepercayaan 95%	40
Tabel 15. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess	41
Tabel 16. Hasil Analisis Uji t Tidak Berpasangan antara Konsentrasi Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina- 2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess dengan Indeks Kepercayaan 95%	42

Tabel 17. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess	43
Tabel 18. Hasil Analisis Uji t Tidak Berpasangan antara Konsentrasi Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina- 2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess dengan Indeks Kepercayaan 95%.....	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Sudut Ikatan Ion Nitrit.....	5
Gambar 2. Resonansi Ion Nitrit.....	6
Gambar 3. Mekanisme Reaksi Griess	7
Gambar 4. Siklus Nitrogen dalam Air.....	7
Gambar 5. Mekanisme Nitrifikasi dalam Tubuh Manusia.....	8
Gambar 6. Struktur Kofaktor Molibdenum.....	8
Gambar 7. Struktur Kofaktor Ferredoksin	9
Gambar 8. Reaksi Reduksi Methemoglobin menjadi Hemoglobin	10
Gambar 9. Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>).....	12
Gambar 10. Senyawa 3-Amina-7-Dimetilamina-2-metilfenazin Hidroklorida.....	14
Gambar 11. Mekanisme Reaksi antara 3-Amina-7-Dimetilamina-2- metilfenazin Hidroklorida dengan Nitrit	14
Gambar 12. Spektrofotometer Visibel	15
Gambar 13. Grafik Optimasi 3-Amina-7-Dimetilamina-2- Metilfenazin Hidroklorida.....	27
Gambar 14. Grafik Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Pada Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess	30
Gambar 15. Fillet Daging Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>).....	31
Gambar 16. Hasil Daging Ikan yang Telah Difreeze-drykan	32
Gambar 17. Hasil Daging Ikan yang Telah Digiling Halus	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan Prosedur Percobaan	51
Lampiran 2. Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	54
Lampiran 3. Uji Normalitas Data Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	55
Lampiran 4. Uji Korelasi Pearson Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	56
Lampiran 5. Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	57
Lampiran 6. Uji Normalitas Data Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida	58
Lampiran 7. Uji Korelasi Pearson Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-	

Metilfenazin Hidroklorida	59
Lampiran 8. Uji t Tidak Berpasangan Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dan Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i>	60
Lampiran 9. Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen Griess	61
Lampiran 10. Uji Normalitas Data Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen Griess	62
Lampiran 11. Uji t Berpasangan Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess	63
Lampiran 12. Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen Griess	64
Lampiran 13. Uji Normalitas Data Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> dengan Variasi Waktu Penyimpanan Menggunakan Reagen Griess	65
Lampiran 14. Uji t Berpasangan Pada Penentuan Kadar Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (<i>Pampus argenteus</i>) Tanpa Melalui Proses <i>Freeze Dry</i> Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess	66

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Nitrit merupakan hasil senyawa antara pada proses nitrifikasi dan denitrifikasi. Di alam, nitrit sudah diubah menjadi bentuk nitrat atau bentuk lainnya (Argonne National Laboratory, 2005).

Enzim nitrat reduktase dan nitrit reduktase mengubah nitrat dalam tubuh manusia menjadi amonia melalui zat antara yaitu nitrit. Nitrat digunakan sebagai akseptor elektron untuk memperoleh energi yang akan digunakan untuk mendegradasi senyawa organik ketika kadar oksigen rendah. Amonia yang dihasilkan dikeluarkan melalui urin (L'hirondel, 2002: 16).

Efek racun yang akut dari nitrit adalah methemoglobinemia yaitu lebih dari 10% hemoglobin diubah menjadi methemoglobin. Methemoglobinemia merupakan keadaan ketika darah tidak mampu mengangkut oksigen. Bila konversi ini melebihi 70% maka akan berakibat sangat fatal (Ruse, 1999). Efek yang paling berbahaya apabila mengkonsumsi nitrit dalam jumlah berlebih adalah menaikkan risiko terkena penyakit kanker saluran cerna yang mampu mengakibatkan kematian (Rogers et al., 1995: 29-36).

Nitrit merupakan senyawa yang larut dalam air sehingga banyak nitrit yang terkandung di dalam perairan. Salah satu perairan yang terdapat di sekitar Jakarta adalah Muara Angke. Kadar nitrit di Muara

Angke sudah mencapai tahap yang mengkhawatirkan. Kadar nitrit di Muara Angke sebesar $17,48 \times 10^{-3}$ ppm sedangkan ambang batas kadar nitrit dalam air laut sebesar 2×10^{-5} ppm (Prartono and Hasena, 2009: 1-8). Nitrit yang terkandung dalam air laut dapat terakumulasi dalam daging ikan (Lewis and Morris, 1986: 183-195). Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) merupakan ikan yang terus mengalami peningkatan konsumsi sebesar 5,34% sejak tahun 2002 hingga 2006 (Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap, 2007: 58). Nitrit akan terakumulasi dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang banyak terdapat di Muara Angke

. Apabila nitrit tersebut terakumulasi di tubuh manusia dalam kadar yang cukup tinggi, kemungkinan besar akan mengakibatkan penyakit-penyakit seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

Reagen yang sering digunakan untuk menganalisis kadar nitrit adalah sulfanilamida dan N dihidroklorida-1-naftiletildiamin atau yang lebih sering dikenal sebagai reagen Griess (Michalsky and Kurzyca, 2006: 5-18). Namun metode ini memiliki kelemahan, yaitu pembentukan senyawa azo memerlukan waktu selama 30 menit di tempat gelap dan membutuhkan banyak reagen. Reagen lain yang biasa digunakan dalam penentuan nitrit adalah senyawa 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida (Gayathri and Balasubramanian, 1999: 174-181). Senyawa ini tidak membutuhkan waktu yang lama dalam pembentukan senyawa azonium dan hanya menggunakan satu reagen.

Oleh karena itu, pada penelitian ini penulis berharap dapat mengoptimasi konsentrasi senyawa 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dalam penentuan nitrat dan nitrit, yang kemudian diaplikasikan untuk penentuan nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

B. IDENTIFIKASI MASALAH

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas, maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana cara menentukan kadar nitrit dengan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida?
2. Berapakah konsentrasi optimum 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida pada penentuan kadar nitrit?
3. Berapakah jumlah kadar nitrit (menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida) yang terkandung dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan?

C. PEMBatasan MASALAH

Masalah pada penelitian ini dibatasi pada penentuan kadar nitrit (menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida) dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan.

D. PERUMUSAN MASALAH

Masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:
Bagaimanakah pengaruh waktu penyimpanan terhadap kadar nitrit (menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida) dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*)?

E. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kadar optimum 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dalam penentuan nitrit.
2. Mengetahui kadar nitrit yang terkandung dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan.

F. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai kadar optimum 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dalam penentuan kadar nitrit.
2. Memberikan informasi mengenai kadar nitrit yang terkandung dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. KAJIAN TEORI

1. Nitrit

a. Sifat-sifat Nitrit

Ion nitrit adalah ion poliatomik dengan rumus molekul NO_2^- yang mempunyai massa molekul sebesar 46,0049 g/mol. Anion ini memiliki panjang ikatan yang simetris dan sudut ikatan sebesar 110° yang disajikan pada Gambar 1. Ion nitrit adalah ligan ambidentat. Dalam kimia organik, ion NO_2 terdapat dalam bentuk ester asam nitrit dan senyawa nitro (Greenwood and Earnshaw, 1997: 529).



Gambar 1. Sudut Ikatan Ion Nitrit (Greenwood and Earnshaw, 1997: 529)

Ion nitrit memiliki struktur simetris dengan panjang ikatan N-O yang sama sehingga dalam teori ikatan valensi digambarkan sebagai hibrida resonansi dengan kontribusi yang sama dari dua bentuk kationik yang merupakan bayangan cermin satu sama lain. Dalam teori orbital molekul ada ikatan sigma antara setiap atom oksigen dan atom nitrogen, dan ikatan pi terdelokalisasi terdiri dari orbital p pada atom nitrogen dan oksigen yang tegak lurus terhadap bidang molekul. Muatan negatif ion yang merata pada dua atom oksigen. Hal tersebut terlihat dari Gambar 2. Kedua atom nitrogen dan

oksigen membawa pasangan elektron. Oleh karena itu ion nitrit adalah basa Lewis. Selain itu dapat bertindak sebagai ligan ambidentat terhadap ion logam, menyumbangkan sepasang elektron dari atom baik nitrogen atau oksigen (Greenwood and Earnshaw, 1997: 530).



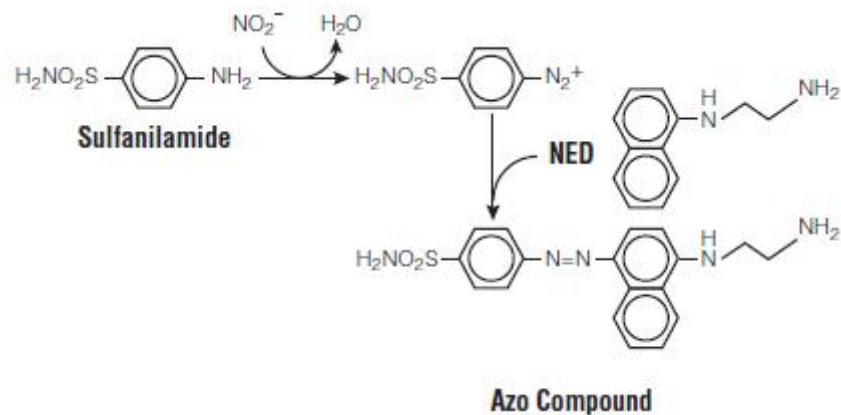
Gambar 2. Resonansi Ion Nitrit (Greenwood and Earnshaw, 1997: 530)

Dalam larutan air asam nitrit adalah asam lemah dengan reaksi sebagai berikut $\text{HNO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{NO}_2^-$ dan memiliki pKa 3,3 pada suhu 18°C. Asam nitrit bersifat volatil dalam fase gas (Greenwood and Earnshaw, 1997: 532).

b. Reaksi Nitrit

1) Reaksi Griess

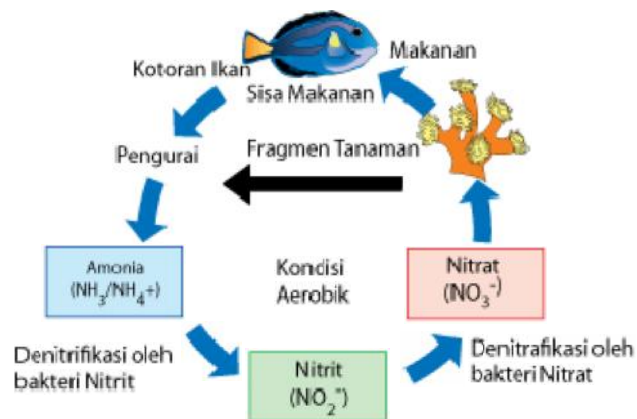
Reaksi yang sering digunakan dalam penentuan kadar nitrit adalah reaksi Griess. Mekanisme reaksi Griess disajikan pada Gambar 3. Reaksi ini didasarkan pada reaksi kimia menggunakan sulfanilamida dan N dihidroklorida-1-naptiletilendiamin (NED) dalam kondisi asam menghasilkan senyawa azo yang membutuhkan waktu pembentukan selama 30 menit pada suhu 4°C. Sistem ini mendeteksi NO_2 di berbagai matriks cairan biologi dan eksperimental seperti plasma, serum, urin dan media kultur jaringan (Ivanov, 2004: 1002-1005).



Gambar 3. Mekanisme Reaksi Griess (Ivanov, 2004: 1002-1005)

2) Siklus Nitrogen dalam Air

Nitrit merupakan senyawa yang biasa terdapat di dalam air laut. Hal ini dikarenakan nitrit merupakan salah satu senyawa siklus nitrogen dalam air. Siklus nitrogen disajikan pada Gambar 4 (Freedman, 2007: 1946).



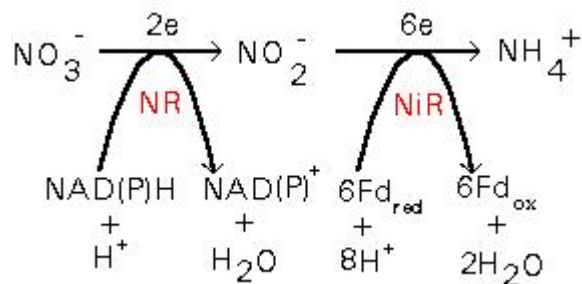
Gambar 4. Siklus Nitrogen dalam Air (Freedman, 2007: 1946)

Mikroorganisme sangat berperan besar dalam siklus ini. Amonia yang dikeluarkan oleh hewan-hewan laut diubah menjadi nitrit oleh bakteri *Nitrosococcus*. Namun nitrit tidak bertahan lama di dalam air laut karena bakteri *Nitrobacter* segera mengubah nitrit menjadi nitrat. Proses ini disebut denitrifikasi. Nitrat yang dihasilkan akan diserap

oleh akar tumbuhan laut. Namun jumlah tumbuhan laut yang berkurang drastis menyebabkan kadar nitrat meningkat dalam air laut (Freedman, 2007: 1946).

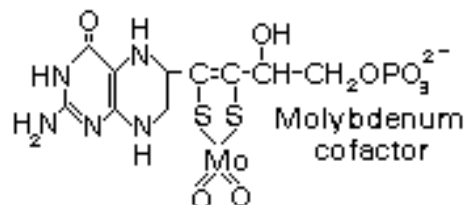
3) Proses Nitrifikasi

Proses nitrifikasi merupakan kebalikan dari proses denitrifikasi. Proses nitrifikasi ialah proses perubahan nitrat menjadi amonia dengan senyawa antara berupa nitrit (Rhodes, 2009: 247). Mekanisme reaksi dari proses nitrifikasi disajikan pada Gambar 5.



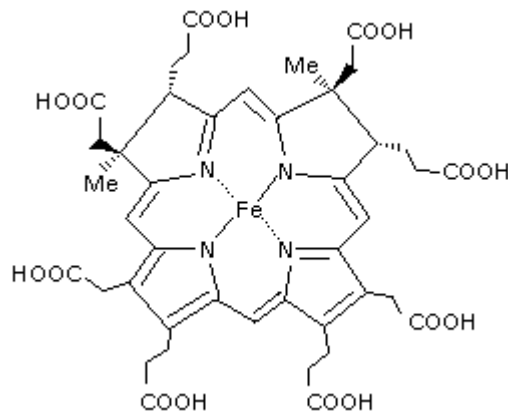
Gambar 5. Mekanisme Nitrifikasi dalam Tubuh Manusia (Rhodes, 2009: 247)

Nitrat direduksi menjadi nitrit dengan bantuan enzim nitrat reduktase. Enzim ini memiliki kofaktor molibdenum (Rhodes, 2009: 247). Struktur kofaktor molibdenum disajikan dalam Gambar 6.



Gambar 6. Struktur Kofaktor Molibdenum (Rhodes, 2009: 247)

Setelah itu, nitrit direduksi menjadi amonia dengan bantuan nitrit reduktase. Enzim ini memiliki kofaktor ferredoksin (Rhodes, 2009: 248). Struktur kofaktor ferredoksin disajikan dalam Gambar 7.



Gambar 7. Struktur Kofaktor Ferredoksin (Rhodes, 2009: 248)

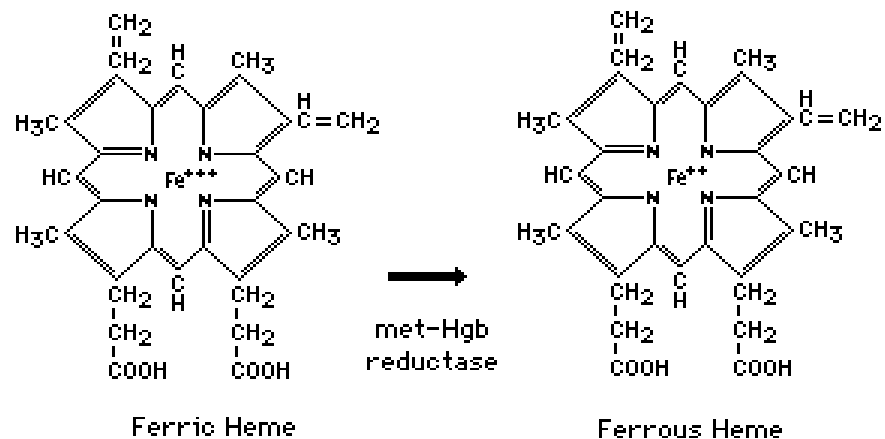
2. Efek Nitrit Terhadap Mahluk Hidup

Batas harian nitrit yang dapat diterima tubuh manusia adalah sebesar 0,07 mg nitrit per kg berat badan per hari (Murata and Ishinaga, 2001: 5-9). Dengan dosis yang lebih besar akan dapat membahayakan neonatus karena belum lengkapnya pembentukan dan regenerasi hemoglobin di dalam tubuh (Kim et al., 2005: 237-246).

Toksisitas nitrit pada manusia terjadi melalui metabolisme enterohepatik nitrat menjadi amonia, dengan nitrit sebagai senyawa antara. Nitrit mengoksidasi ion besi dalam hemoglobin dari besi ferro (2+) menjadi besi ferri (3+), yang mengakibatkan darah tidak dapat membawa oksigen. Proses ini dapat mengakibatkan kurangnya oksigen pada jaringan organ, kondisi berbahaya tersebut disebut methemoglobinemia (Kim et al., 2005: 237-246). Bayi sangat rentan mengalami methemoglobinemia yang dikenal sebagai sindrom bayi biru. Sindrom ini dapat menyebabkan lambung terluka, infeksi, diare,

dan intoleransi protein (Addiscott and Benjamin, 2004: 98-104). Methemoglobinemia dapat diobati dengan metilen biru. Metilen biru mengubah methemoglobin (Fe^{3+}) menjadi hemoglobin (Fe^{2+}) (Kim et al., 2005: 237-246).

Beberapa orang tertentu dapat memproduksi dalam jumlah yang cukup atau kurang atau tidak memproduksi sama sekali enzim methemoglobin reduktase. Enzim tersebut berfungsi untuk mengubah methemoglobin menjadi hemoglobin (Marschner, 1999: 207). Reaksi reduksi methemoglobin menjadi hemoglobin disajikan dalam Gambar 8.



Gambar 8. Reaksi Reduksi Methemoglobin menjadi Hemoglobin (Marschner, 1999: 208)

Nitrit dapat mencapai kadar yang tinggi dan berpotensi menyebabkan kematian ikan dalam sistem air tawar atau muara sungai dekat dengan tanah (Romano and Zeng, 2007: 1955-1962). Konsentrasi lebih dari 30 ppm nitrit dapat menghambat pertumbuhan, merusak sistem kekebalan tubuh dan menyebabkan stres pada beberapa spesies akuatik (Sharpe, 2009).

Penyakit keracunan nitrit juga dikenal sebagai penyakit darah coklat karena darah berubah warna menjadi coklat akibat dari peningkatan methemoglobin. Namun, methemoglobin menyebabkan masalah yang lebih serius daripada mengubah warna darah. Hal itu membuat darah tidak dapat membawa oksigen, dan ikan dapat mati lemas walaupun terdapat cukup oksigen di dalam air (Sharpe, 2009).

Berbagai jenis ikan berbeda dalam hal mentolerir nitrit. Beberapa ikan mungkin hanya lesu, sedangkan yang lain mungkin mati mendadak tanpa tanda-tanda penyakit yang jelas. Gejala umum ialah terengah-engah di permukaan air, gerakan insang yang cepat, dan perubahan warna insang dari coklat ke coklat gelap. Ikan yang terpapar nitrit dengan kadar rendah untuk jangka waktu yang lama dapat mengalami kerusakan pada sistem kekebalan tubuh dan rentan terhadap penyakit sekunder, seperti sirip busuk dan infeksi bakteri. Methemoglobin meningkatkan laju kerusakan hati, insang dan sel darah. Jika tidak diobati, ikan akhirnya mati karena kekurangan oksigen (Sharpe, 2009).

B. Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*)

Klasifikasi ilmiah ikan bawal putih menurut Pauly and Martosubroto, 1996: 59 adalah:

Kerajaan : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Actinopterygii

Ordo : Perciformes
Famili : Stromateidae
Genus : *Pampus*
Spesies : *Pampus argenteus*



Gambar 9. Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*)

Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) juga disebut bawal cermin yang berbentuk seperti rombus dan sedikit cembung. Bawal cermin dewasa kelihatan lebih lebar dan cembung. Mata terletak di bagian kepala yang kelihatan seakan bersambung terus dengan badan (Pauly and Martosubroto, 1996: 59). Penampakan fisik ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) disajikan pada Gambar 9.

Meskipun badan bawal cermin kelihatan lebar tetapi mulut dan matanya agak kecil dan menyatu di ujung bagian kepala. Rahang atas dan bawah juga tidak dapat terbuka dengan luas. Garisan deria di badannya bermula dari insang hingga ekor. Sirip pektoral lebih panjang berbanding sirip dorsal dan ekor melengkung bentuk V. Badan bawal cermin diliputi sisik halus berwarna putih perak dan sebagian sirip berwarna kelabu. Setengah bagian badannya diliputi bintik hitam halus

(Pauly and Martosubroto, 1996: 59). Nutrisi yang terkandung dalam 100 gram ikan bawal putih disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Nutrisi Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) (Krzynowek and Murphy, 1987: 19)

Nutrisi	(%)
Protein	20,31
Lemak	5,71
Air	74,76
Abu	1,16

Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) banyak terdapat di samudera Hindia selain Afrika, Indonesia, Malaysia dan Jepang. Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) hidup dan berenang secara berkelompok. Biasanya pada musim tertentu bawal cermin mudah diperoleh. Pergerakan spesies bawal yang berkelompok menjadikannya sebagai tangkapan yang sesuai dengan menggunakan pukat (Pauly and Martosubroto, 1996: 60). Konsumsi ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) masyarakat Jakarta disajikan dalam Tabel 2.

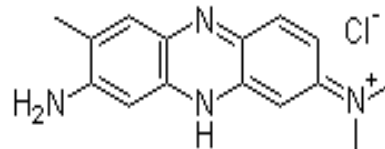
Tabel 2. Konsumsi Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) (Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap, 2007: 58)

Jenis Ikan	Tahun					Kenaikan rata-rata
	2002	2003	2004	2005	2006	
Ikan bawal putih	31574 ton	30090 ton	36059 ton	33468 ton	37950 ton	5,34%

C. Senyawa 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

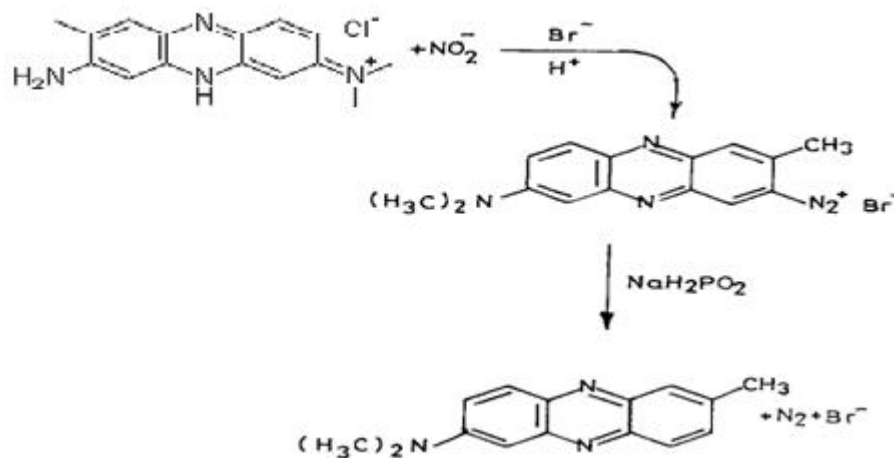
Senyawa 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida memiliki rumus molekul $C_{15}H_{17}ClN_4$ dengan massa molekul

288,78g/mol, titik leleh 290°C dan kelarutan dalam air sebesar 50g/L. Struktur molekul 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida disajikan pada Gambar 10 (Gayathri and Balasubramanian, 1999: 174-181).



Gambar 10. Senyawa 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida (Gayathri and Balasubramanian, 1999: 174-181)

Pengolahan alkilamina primer dengan nitrit akan menghasilkan garam diazonium, tetapi garam alkildiazonium tidak stabil dan terurai menjadi campuran alkohol dan alkena bersama-sama N_2 . Penguraian itu berlangsung lewat suatu karbokation. Garam arildiazonium stabil pada 0°C dan merupakan zat antara sintetis yang berguna karena N_2 merupakan gugus pergi yang baik (Gayathri and Balasubramanian, 1999: 174-181). Mekanisme reaksi antara 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan nitrit disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Mekanisme Reaksi antara 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan Nitrit (Gayathri and Balasubramanian, 1999: 174-181)

D. Spektrofotometer Visibel

Spektrofotometer adalah suatu instrumen untuk mengukur transmittan/absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, pengukuran terhadap sederetan sampel pada suatu panjang gelombang tunggal (Skoog, 2004: 529). Gambar alat spektrofotometer visibel disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Spektrofotometer Visibel

Spektrofotometri visibel mengacu pada spektrofotometri serapan dalam daerah spektrum ultraviolet-tampak. Penyerapan pada rentang cahaya tampak secara langsung mempengaruhi persepsi warna bahan kimia yang terlibat. Panjang gelombang cahaya tampak dan pewarnaannya disajikan pada Tabel 3 (Skoog, 2004: 529).

Tabel 3. Panjang Gelombang Cahaya Tampak dan Pewarnaannya (Skoog, 2004: 529)

Panjang Gelombang (nm)	Pewarnaan
380-430	Ungu
430-475	Biru
475-495	Biru Kehijauan
495-505	Hijau Kebiruan
505-555	Hijau
555-575	Hijau Kekuningan
575-600	Kuning
600-650	Jingga
650-780	Merah

Hukum Lambert – Beer digunakan untuk radiasi monokromatik, dimana absorbansi sebanding dengan tebal medium (b) dan konsentrasi (c) senyawa yang mengabsorpsi. Hal ini dapat dinyatakan dengan persamaan sebagai berikut :

$$A = a.b.c \dots\dots\dots(1.1)$$

a adalah faktor kesebandingan yang disebut absorptivitas. Ukuran dari a tergantung pada satuan b dan c. Untuk larutan dari senyawa yang mengabsorpsi, b sering dinyatakan dalam centimeter dan c dalam gram per Liter sehingga satuan absorptivitas adalah $L.g^{-1}.cm^{-1}$ (Skoog, 2004: 560).

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri visibel terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometer visibel karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar visibel perlu diperhatikan, hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan mengubah senyawa tersebut menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu (Skoog, 2004: 560). Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu:

1. Reaksinya selektif dan sensitif.
2. Reaksinya cepat dan kuantitatif.
3. Hasil reaksi stabil dalam jangka waktu yang lama.

4. Waktu operasional yang cepat

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan (Skoog, 2004: 562).

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal (Skoog, 2004: 562). Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu :

1. Pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
2. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi.
3. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang maksimal.

B. KERANGKA BERPIKIR

Nitrit merupakan senyawa yang banyak terdapat di perairan. Tingginya kadar nitrit dapat terakumulasi dalam ikan yang hidup di

perairan tersebut. Bakteri nitrifikasi seperti *Nitrosococcus* yang banyak terdapat dalam perairan dapat terus berkembang biak dan menaikkan kadar nitrit yang terkandung dalam ikan. Nitrit merupakan senyawa berbahaya yang apabila dikonsumsi melebihi ambang batas dapat menyebabkan methemoglobinemia. Methemoglobinemia merupakan keadaan ketika darah tidak mampu mengangkut oksigen. Nitrit biasanya ditentukan menggunakan spektrofotometer visibel. Senyawa yang dapat ditentukan menggunakan spektrofotometer visibel adalah senyawa yang berwarna. Reagen yang dapat membentuk senyawa berwarna apabila direaksikan dengan nitrit ialah reagen Griess. Reaksi antara nitrit dengan reagen Griess akan membentuk senyawa azo. Namun, pembentukan senyawa azo menggunakan reagen Griess memerlukan waktu selama 30 menit. Disisi lain, reaksi antara nitrit dengan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dapat membentuk senyawa azo. Pembentukan senyawa azo menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida membutuhkan waktu selama 3 menit. Dari hal tersebut dapat ditarik hipotesis yang berkenaan dengan penelitian ini yaitu reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dapat digunakan sebagai reagen pembentuk warna pada penentuan nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan spektrofotometer visibel.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Tujuan Operasional

Tujuan operasional penelitian ini adalah:

1. Menentukan konsentrasi optimum senyawa 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida pada penentuan nitrit.
2. Menentukan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan yang berasal dari tangkapan nelayan di Muara Angke.

B. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta, dimulai pada Mei hingga November 2011.

C. Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang meliputi:

1. Optimasi konsentrasi 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dalam penentuan nitrit
2. Pembuatan kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

3. Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida
4. Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

D. Prosedur penelitian

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer visibel Shimadzu 1601 V, blender Philips HR 2071, freeze drying Labtop Lypophilization, grinder Philips HL-1606, sentrifuge Adam 0151, neraca analitik Wigen Hauser, spatula dan alat-alat gelas lainnya. Seluruh alat gelas menggunakan merk Pyrex.

Bahan-bahan yang digunakan adalah ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) berasal dari tangkapan nelayan di Muara Angke, larutan asam sulfat, larutan kalium bromida, larutan natrium nitrit, larutan 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida, larutan natrium karbonat, larutan natrium hipofosfit, larutan sulfanilamida, larutan N dihidroklorida-1-naptilendiamin (NED), larutan asam klorida pekat dan akuades. Seluruh bahan menggunakan merk Merck.

2. Cara Kerja

a. Optimasi konsentrasi dalam penentuan nitrit

Sebanyak 2mL larutan 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida 0,001% (b/v), 1mL asam sulfat 4,25M dan 1mL kalium bromida 1% dimasukkan ke dalam labu ukur 25mL. Langkah ini kemudian diulang menggunakan larutan 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0,002% (b/v), 0,003% (b/v), 0,004% (b/v) atau 0,005% (b/v). Selanjutnya ditambah 10mL larutan standar yang mengandung 0,1mg nitrit dalam 100mL, lalu ditambah 1mL natrium hipofosfit 1%, diaduk hingga homogen. Selanjutnya diencerkan hingga tanda batas kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 545nm.

b. Pembuatan kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit dengan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Sebanyak 2mL larutan 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida yang telah dioptimasi konsentrasinya ditambah 1mL asam sulfat 4,25M dan 1mL kalium bromida 1% kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25mL. Selanjutnya ditambah 10mL larutan standar nitrit 1ppm lalu ditambah 1mL natrium hipofosfit 1%, diaduk hingga homogen. Langkah ini kemudian diulang menggunakan larutan nitrit dengan konsentrasi yang berbeda 1ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm, 25ppm,

30ppm, 40ppm dan 45ppm. Selanjutnya diencerkan hingga tanda batas setelah itu absorbansi diukur pada panjang gelombang 545nm. Data absorbansi yang diperoleh diplotkan dalam kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit.

- c. Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan

Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan 1 hari, 3 hari, 7 hari, 9 hari, 11 hari dan 14 hari yang diperoleh dari tangkapan nelayan di Muara Angke dibersihkan terlebih dahulu, dipotong, diambil hanya bagian daging ikan tersebut. Fillet ikan yang diperoleh kemudian dihancurkan menggunakan *blender*. Fillet yang telah hancur selanjutnya *difreeze-drykan* menggunakan alat *freeze drying*. Fillet beku kemudian digiling menggunakan *grinder*, diayak, lalu disimpan dalam kemasan tertutup.

Sampel sebesar 0,5000 gram dimasukkan ke dalam gelas kimia 25 mL. Setelah itu, sampel diekstraksi menggunakan 5mL natrium karbonat 0,5% sebanyak tiga kali pengulangan. Selanjutnya, ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman 41. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan lalu diencerkan dengan akuades hingga 25mL. Langkah selanjutnya untuk penentuan nitrit sesuai dengan prosedur b dengan konsentrasi 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida yang telah dioptimasi.

- d. Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan

Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dengan variasi waktu penyimpanan 1 hari, 3 hari, 7 hari, 9 hari, 11 hari dan 14 hari yang diperoleh dari tangkapan nelayan di Muara Angke dibersihkan terlebih dahulu, dipotong, diambil hanya bagian daging ikan tersebut. Fillet ikan yang diperoleh kemudian dihancurkan menggunakan *blender*. Fillet kemudian digiling menggunakan *grinder*, diayak, lalu disimpan dalam kemasan tertutup.

Sampel sebesar 0,5000 gram dimasukkan ke dalam gelas kimia 25 mL. Setelah itu, sampel diekstraksi menggunakan 5mL natrium karbonat 0,5% sebanyak tiga kali pengulangan. Selanjutnya, ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman 41. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan lalu diencerkan dengan akuades hingga 25mL. Langkah selanjutnya untuk penentuan nitrit sesuai dengan prosedur b menggunakan konsentrasi 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida yang telah dioptimasi.

E. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan yaitu:

1. Menentukan konsentrasi optimum 3-Amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida pada penentuan nitrit

Tabel 4. Optimasi Konsentrasi Pada Penentuan Nitrit

Konsentrasi 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida	Absorbansi		
	I	II	III
0,0013			
0,0017			
0,0021			
0,0026			
0,0031			
0,0040			
0,0050			
0,0061			

2. Pembuatan kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Tabel 5. Pembuatan Kurva Kalibrasi Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Nitrit Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

Konsentrasi larutan standar nitrit	Absorbansi
1ppm	
5ppm	
10ppm	
15ppm	
20ppm	
25ppm	
30ppm	
35ppm	
40ppm	
45ppm	

3. Menentukan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2metilfenazin hidroklorida.

Tabel 6. Penentuan Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

Ikan bawal putih (<i>Pampus argenteus</i>)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
	I	II	III	
1 hari				
3 hari				
7 hari				
9 hari				
11 hari				
14 hari				

4. Menentukan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2metilfenazin hidroklorida.

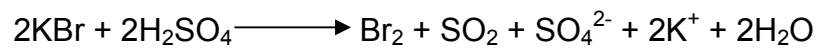
Tabel 7. Penentuan Nitrit dalam Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

Ikan bawal putih (<i>Pampus argenteus</i>)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
	I	II	III	
1 hari				
3 hari				
7 hari				
9 hari				
11 hari				
14 hari				

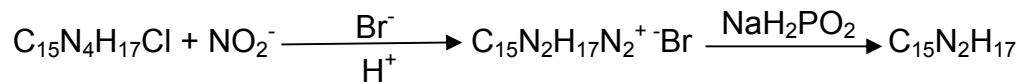
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Optimasi Konsentrasi 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

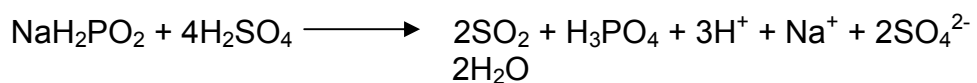
Sebelum direaksikan dengan nitrit, reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida ditambah asam sulfat dan kalium bromida. Hal ini dilakukan untuk mencegah nitrit teroksidasi menjadi nitrat.



Selain itu, penambahan asam sulfat berfungsi untuk memberikan suasana asam karena reaksi antara 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan nitrit hanya dapat berlangsung dalam suasana asam.



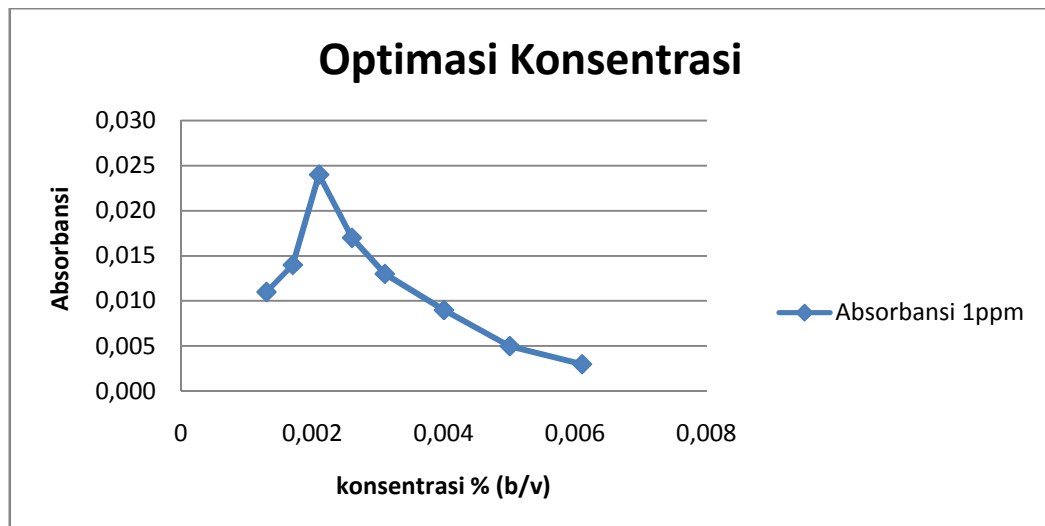
Selanjutnya, ditambah 10 mL larutan standar nitrit 1ppm, lalu ditambah natrium hipofosfit untuk memaksimalkan pencegahan nitrit teroksidasi menjadi nitrat. Hal ini dilakukan karena nitrat tidak dapat bereaksi dengan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida. Apabila nitrit teroksidasi menjadi nitrat maka jumlah nitrit yang bereaksi dengan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida berkurang sehingga absorbansi yang didapat tidak maksimal.



Konsentrasi 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida perlu dioptimasi untuk mengetahui jumlah pereaksi minimum yang harus ada dalam larutan, sehingga semua analit nitrit dapat terkomplekskan. Jumlah pereaksi yang cukup tersebut diharapkan tidak terlalu berlimpah agar tidak mengganggu jalannya reaksi.

Tabel 8. Optimasi Konsentrasi 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

Konsentrasi % (b/v)	Absorbansi
0,0013	0,011
0,0017	0,014
0,0021	0,024
0,0026	0,017
0,0031	0,013
0,0040	0,009
0,0050	0,005
0,0061	0,003



Gambar 13. Grafik Optimasi Konsentrasi 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

Nilai absorbansi menunjukkan jumlah analit nitrit yang telah membentuk kompleks dengan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-

metilfenazin hidroklorida. Nilai absorbansi terbesar menunjukkan konsentrasi nitrit maksimal yang bereaksi dengan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida. Konsentrasi 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan nilai absorbansi terbesar menunjukkan konsentrasi optimum reagen tersebut. Berdasarkan Tabel 8 dan Grafik 13, konsentrasi optimum 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida adalah 0,0021% (b/v).

B. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar dibuat dengan cara mengencerkan larutan induk 100ppm hingga diperoleh konsentrasi yang diinginkan. Persamaan garis absorbansi vs konsentrasi larutan standar natrium nitrit digunakan untuk memperoleh konsentrasi nitrit yang terkandung dalam sampel berupa ikan bawal putih (*Pampus argenteus*). Nilai absorbansi larutan standar nitrit yang diperoleh menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida disajikan pada Tabel 9. Kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar disajikan pada Gambar 14. Persamaan garis absorbansi vs konsentrasi larutan standar natrium nitrit yang diperoleh adalah sebesar $y=0,00563x$ dengan regresi sebesar 0,99277.

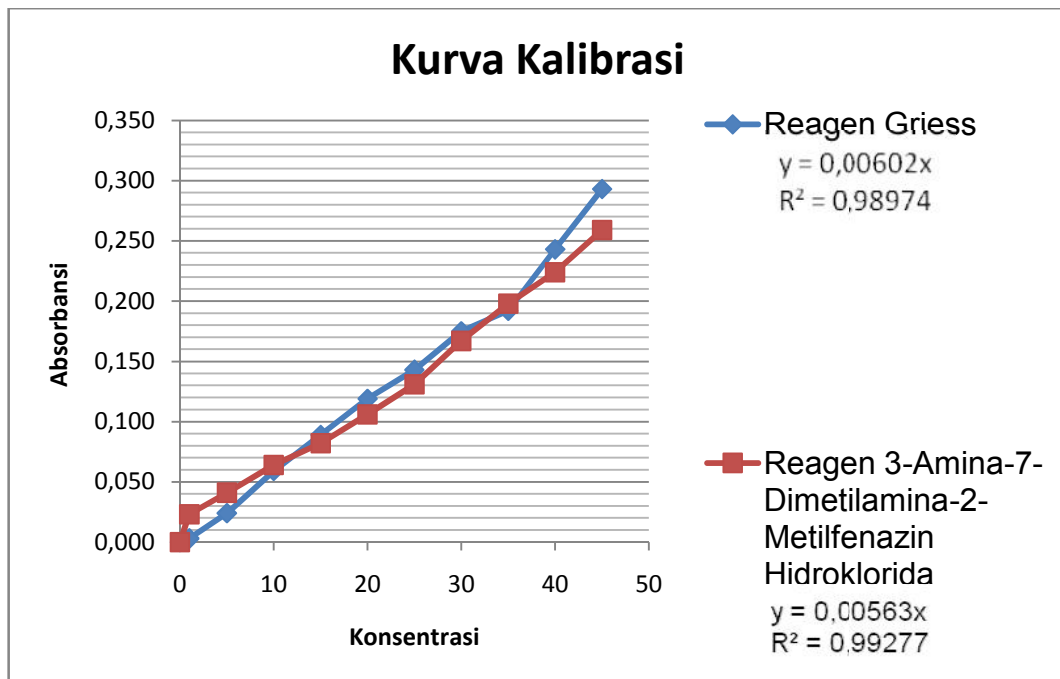
Tabel 9. Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Pada Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida

Konsentrasi Larutan (ppm)	Absorbansi
0	0,000
1	0,023
5	0,041
10	0,064
15	0,082
20	0,106
25	0,131
30	0,167
35	0,198
40	0,224
45	0,259

Sebagai bahan perbandingan, peneliti menggunakan reagen Griess yang biasanya digunakan pada penentuan nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*). Larutan standar yang digunakan pada reagen Griess sama seperti larutan standar yang digunakan dalam reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida. Hal ini dilakukan agar tidak terdapat perbedaan konsentrasi larutan standar yang digunakan pada kedua reagen. Nilai absorbansi larutan standar nitrit yang diperoleh menggunakan reagen Griess disajikan pada Tabel 10. Kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar disajikan pada Gambar 14. Pada penggunaan reagen Griess, persamaan garis absorbansi vs konsentrasi larutan standar natrium nitrit yang diperoleh adalah sebesar $y=0,00602x$ dengan regresi sebesar 0,98974.

Tabel 10. Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Pada Reagen Griess

Konsentrasi Larutan (ppm)	Absorbansi
0	0,000
1	0,003
5	0,024
10	0,059
15	0,089
20	0,119
25	0,143
30	0,175
35	0,192
40	0,243
45	0,293



Gambar 14. Grafik Absorbansi vs Konsentrasi Larutan Standar Pada Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess

Dari grafik pada Gambar 14 terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kurva kalibrasi yang menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan

kurva kalibrasi yang menggunakan reagen Griess. Namun, peneliti lebih menyarankan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hiroklorida dalam penentuan nitrit karena pembentukan senyawa azo yang hanya membutuhkan waktu selama 3 menit. Sedangkan pembentukan senyawa azo pada reagen Griess membutuhkan waktu selama 30 menit di tempat gelap.

C. Preparasi Sampel Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*)

Sampel yang berupa ikan bawal putih diperoleh dari hasil tangkapan nelayan di Muara Angke dan memiliki ukuran rata-rata panjang 21cm dan lebar 15 cm serta berat sebesar 500g. Sampel yang dipilih merupakan ikan segar yang diperoleh dari tangkapan nelayan. Sampel kemudian dipotong dan diambil hanya bagian daging ikannya. Hasil fillet ikan disajikan pada Gambar 15. Hal ini dikarenakan, biasanya bagian yang dikonsumsi oleh manusia hanya bagian daging ikannya saja.



Gambar 15. Fillet Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*)

Potongan daging ikan kemudian diblender untuk mendapatkan potongan daging kasar. Tahap selanjutnya ialah ikan difreeze-drykan

menggunakan alat *freeze-dryer*. Hasil daging ikan yang telah di *freeze dry* disajikan pada Gambar 16. Tujuan tahap ini adalah untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat dalam daging ikan, sehingga kandungan nitrit yang diukur berasal dari daging ikan saja. Namun, peneliti juga ingin meneliti kandungan nitrit dalam ikan basah sehingga terdapat sampel ikan yang tidak melalui tahap *freeze drying*. Keingintahuan ini berdasarkan pengolahan ikan oleh masyarakat yang biasanya digoreng hingga kering dan direbus. Pada ikan yang direbus terdapat kandungan air yang kemungkinan berpengaruh terhadap kadar nitrit di dalam ikan tersebut.



Gambar 16. Hasil Daging Ikan yang Telah Difreeze-drykan

Setelah itu, daging ikan digrinder hingga halus agar mudah diekstraksi. Hasil daging ikan yang telah digiling halus disajikan pada Gambar 17.



Gambar 17. Hasil Daging Ikan yang Telah Digiling Halus

Daging ikan yang telah halus diambil sebanyak 0,5g lalu diekstrak menggunakan natrium karbonat. Fungsi natrium karbonat adalah mengubah nitrit yang terkandung dalam daging ikan menjadi natrium nitrit. Selain itu, natrium karbonat dapat menghilangkan ion-ion pengganggu seperti Ag^+ , Ca^{2+} dan Ba^{2+} menjadi endapan karbonat.

Sampel ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) segar disimpan dalam *freezer* lemari pendingin untuk memperlambat kebusukan. Sampel ikan didiamkan dengan waktu yang berbeda-beda yaitu 1 hari, 3 hari, 7 hari, 9 hari, 11 hari dan 14 hari. Hal tersebut dilakukan untuk melihat pengaruh waktu terhadap nitrit yang terkandung dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

D. Hasil Pengolahan Data

1. Penentuan Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Berdasarkan penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 11. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Hari	Konsentrasi (ppm)
1	5,388
3	10,12
7	16,76
9	22,68
11	26,05
14	28,89

Dari Tabel 11 terlihat bahwa semakin lama waktu pendiaman daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) maka semakin besar kadar nitrit yang terkandung di dalamnya. Hal ini disebabkan terdapatnya bakteri *Nitrosomonas* yang dapat mengubah amonia menjadi nitrit. Bakteri *Nitrosomonas* bermetabolisme dengan baik pada temperatur 30-36°C. Namun, bakteri *Nitrosomonas* tetap aktif pada suhu di bawah 6°C bahkan pada suhu 0°C. Proses nitrifikasi yang dilakukan pada suhu yang lebih rendah dari suhu optimumnya akan menyebabkan laju pertumbuhan mikroba melambat dan berakibat pada peningkatan waktu retensinya. Pada kondisi tersebut proses nitrifikasi akan tetap berlangsung walaupun memerlukan waktu yang lebih lama. Semakin lama waktu pendiaman daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) maka semakin banyak bakteri *Nitrosomonas* yang berkembang biak. Hal tersebut mengakibatkan semakin banyak proses nitrifikasi yang terjadi di dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) sehingga berdampak pada peningkatan kadar nitrit yang terkandung dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

Kadar nitrit di air laut Muara Angke adalah sebesar $17,48 \times 10^{-3}$ ppm. Sedangkan kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) pada hari pertama adalah sebesar 5,388 ppm. Kadar nitrit pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang jauh lebih tinggi dibandingkan kadar nitrit pada Muara Angke disebabkan

oleh proses bioakumulasi dan biomagnifikasi. Bioakumulasi adalah peningkatan konsentrasi zat kimia dalam tubuh makhluk hidup dalam waktu yang cukup lama, dibandingkan dengan konsentrasi zat kimia yang terdapat di alam. Bioakumulasi pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) terjadi karena tingginya paparan nitrit dari air Muara Angke yang terus menerus dikonsumsi oleh ikan tersebut. Sedangkan biomagnifikasi adalah masuknya zat kimia dari lingkungan melalui rantai makanan yang mengakibatkan tingkat konsentrasi zat kimia dalam organisme sangat tinggi. Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) merupakan omnivora. Bioakumulasi yang terjadi pada fitoplankton maupun hewan-hewan kecil di perairan Muara Angke mengakibatkan peningkatan kadar nitrit pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

Batas aman mengonsumsi nitrit dalam satu hari adalah sebesar 0,07 mg nitrit per kg berat badan. Apabila berat manusia dewasa sebesar 60kg, maka kadar konsumsi nitrit yang diperbolehkan ialah 4,2mg. Sedangkan kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) pada hari pertama adalah sebesar 5,388ppm. Maka, peneliti menyarankan agar masyarakat tidak mendiamkan daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) untuk dikonsumsi.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, diperoleh nilai signifikansi 0,000. Oleh karena nilai signifikansi kurang dari 0,05,

maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat korelasi antara waktu pendiaman dengan dengan konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) adalah bermakna. Nilai korelasi Pearson sebesar 0,991 menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat. Korelasi positif bermakna semakin lama waktu pendiaman, maka semakin besar pula kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

2. Penentuan Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Berdasarkan penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 12. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) dengan Variasi Waktu Penyimpanan Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Hari	Konsentrasi (ppm)
1	4,085
3	7,697
7	11,90
9	15,75
11	17,35
14	18,53

Dari Tabel 12 terlihat bahwa semakin lama waktu pendiaman daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) maka semakin besar kadar nitrit yang terkandung di dalamnya. Hal ini disebabkan terdapatnya bakteri *Nitrosomonas* yang dapat mengubah amonia

menjadi nitrit. Bakteri *Nitrosomonas* bermetabolisme dengan baik pada temperatur 30-36°C. Namun, bakteri *Nitrosomonas* tetap aktif pada suhu di bawah 6°C bahkan pada suhu 0°C. Proses nitrifikasi yang dilakukan pada suhu yang lebih rendah dari suhu optimumnya akan menyebabkan laju pertumbuhan mikroba melambat dan berakibat pada peningkatan waktu retensinya. Pada kondisi tersebut proses nitrifikasi akan tetap berlangsung walaupun memerlukan waktu yang lebih lama. Semakin lama waktu pendiaman daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) maka semakin banyak bakteri *Nitrosomonas* yang berkembang biak. Hal tersebut mengakibatkan semakin banyak proses nitrifikasi yang terjadi di dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) sehingga berdampak pada peningkatan kadar nitrit yang terkandung dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

Kadar nitrit di air laut Muara Angke adalah sebesar 17,48x 10⁻³ppm. Sedangkan kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) pada hari pertama adalah sebesar 4,085ppm. Kadar nitrit pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang jauh lebih tinggi dibandingkan kadar nitrit pada Muara Angke disebabkan oleh proses bioakumulasi dan biomagnifikasi. Bioakumulasi adalah peningkatan konsentrasi zat kimia dalam tubuh makhluk hidup dalam waktu yang cukup lama, dibandingkan dengan konsentrasi zat kimia yang terdapat di alam. Bioakumulasi pada ikan bawal putih

(*Pampus argenteus*) terjadi karena tingginya paparan nitrit dari air Muara Angke yang terus menerus dikonsumsi oleh ikan tersebut. Sedangkan biomagnifikasi adalah masuknya zat kimia dari lingkungan melalui rantai makanan yang mengakibatkan tingkat konsentrasi zat kimia dalam organisme sangat tinggi. Ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) merupakan omnivora. Bioakumulasi yang terjadi pada fitoplankton maupun hewan-hewan kecil di perairan Muara Angke mengakibatkan peningkatan kadar nitrit pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

Batas aman mengonsumsi nitrit dalam satu hari adalah sebesar 0,07 mg nitrit per kg berat badan. Apabila berat manusia dewasa sebesar 60kg, maka kadar konsumsi nitrit yang diperbolehkan ialah 4,08mg. Sedangkan kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) pada hari pertama adalah sebesar 4,085ppm. Maka, peneliti menyarankan agar masyarakat tidak mendiamkan daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) untuk dikonsumsi.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, diperoleh nilai signifikansi 0,001. Oleh karena nilai signifikansi kurang dari 0,05, maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat korelasi antara waktu pendiaman dengan dengan konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) adalah bermakna. Nilai korelasi Pearson sebesar 0,981 menunjukkan korelasi positif

dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat. Korelasi positif bermakna semakin lama waktu pendiaman, maka semakin besar pula kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

3. Perbandingan Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida Melalui Proses *Freeze dry* dan Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry*

Berdasarkan penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 13. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida Melalui Proses *Freeze Dry* dan Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry*

Konsentrasi I (ppm)	Konsentrasi II (ppm)
5,388	4,085
10,12	7,697
16,76	11,90
22,68	15,75
26,05	17,35
28,89	18,53

Konsentrasi I merupakan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh melalui proses *freeze dry* sedangkan konsentrasi II merupakan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh tanpa melalui proses *freeze dry*.

Dari Tabel 13 terlihat bahwa terdapat sedikit perbedaan antara kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh melalui proses *freeze dry* dengan kadar

nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh tanpa melalui proses *freeze dry*. Hal ini disebabkan kandungan air tidak mempengaruhi kandungan nitrit pada sampel sehingga kadar nitrit yang terukur baik yang melalui proses *freeze dry* maupun yang tanpa melalui proses *freeze dry* tersebut tidak jauh berbeda.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 14. Hasil Analisis Uji t Tidak Berpasangan Antara Konsentrasi Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida Melalui Proses *Freeze Dry* dan Tanpa Proses *Freeze Dry* dengan Indeks Kepercayaan 95%

Proses	N	Rerata \pm s.b	Perbedaan Rerata	P
<i>Freeze dry</i>	6	18,31 \pm 9,25	5,76	0,176
Tanpa <i>freeze dry</i>	6	12,55 \pm 5,74		

Dari Tabel 14, diperoleh nilai signifikansi 0,176. Oleh karena nilai signifikansi lebih dari 0,005, maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida melalui proses *freeze dry* dan tanpa melalui proses *freeze dry* adalah tidak bermakna. Hal ini disebabkan proses *freeze dry* tidak mempengaruhi konsentrasi nitrit yang terkandung dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*). Peningkatan konsentrasi nitrit bergantung pada lamanya waktu penyimpanan dimana pada saat tersebut terjadi

proses nitrifikasi. Proses nitrifikasi merupakan proses perubahan amonia menjadi yang mengakibatkan konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) meningkat.

Sebagai bahan perbandingan, peneliti menentukan kadar nitrit yang terkandung dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) menggunakan reagen Griess. Data-data yang diperoleh adalah sebagai berikut:

4. Perbandingan Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess

Berdasarkan penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 15. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan Reagen Griess

Konsentrasi I (ppm)	Konsentrasi II (ppm)
5,388	5,150
10,12	9,634
16,76	15,78
22,68	22,20
26,05	25,42
28,89	28,35

Konsentrasi I merupakan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida sedangkan konsentrasi II merupakan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen Griess.

Dari Tabel 15 terlihat bahwa terdapat sedikit perbedaan antara kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen Griess. Hal ini disebabkan sampel yang digunakan peneliti pada kedua pengukuran merupakan sampel yang sama sehingga kadar nitrit yang terukur menggunakan kedua reagen tersebut tidak jauh berbeda.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 16. Hasil Analisis Uji t Berpasangan Antara Konsentrasi Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess dengan Indeks Kepercayaan 95%

Konsentrasi	N	Rerata±s.b	Perbedaan Rerata±s.b	P
3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida	6	18,32±9,25	0,56±0,24	0,002
Griess	6	17,76±9,16		

Dari Tabel 16, diperoleh nilai signifikansi 0,002. Oleh karena nilai signifikansi kurang dari 0,005, maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan reagen Griess adalah bermakna. Perbedaan rerata

antara konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan reagen Griess adalah sebesar $0,56 \pm 0,24$.

5. Perbandingan Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal (*Pampus argenteus*) Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess

Berdasarkan penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 17. Kadar Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan Reagen Griess

Konsentrasi I (ppm)	Konsentrasi II (ppm)
4,085	3,987
7,697	7,253
11,90	11,46
15,75	15,39
17,35	16,89
18,53	17,83

Konsentrasi I merupakan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida sedangkan konsentrasi II merupakan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen Griess.

Dari Tabel 17 terlihat bahwa terdapat sedikit perbedaan antara kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen 3-amina-7-

dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen Griess. Hal ini disebabkan sampel yang digunakan peneliti pada kedua pengukuran merupakan sampel yang sama sehingga kadar nitrit yang terukur menggunakan kedua reagen tersebut tidak jauh berbeda.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 18. Hasil Analisis Uji t Berpasangan Antara Konsentrasi Nitrit dalam Daging Ikan Bawal Putih (*Pampus argenteus*) Tanpa Melalui Proses *Freeze Dry* Menggunakan Reagen 3-Amina-7-Dimetilamina-2-Metilfenazin Hidroklorida dan Reagen Griess dengan Indeks Kepercayaan 95%

Konsentrasi	N	Rerata±s.b	Perbedaan Rerata±s.b	P
3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida	6	12,55±5,74	0,41±0,19	0,003
Griess	6	12,14±5,60		

Dari Tabel 18, diperoleh nilai signifikansi 0,003. Oleh karena nilai signifikansi kurang dari 0,005, maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan reagen Griess adalah bermakna. Perbedaan rerata antara konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen

3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan reagen Griess adalah sebesar $0,41 \pm 0,19$.

Dari data-data tersebut terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar nitrit pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan kadar nitrit pada ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh menggunakan reagen Griess. Namun, peneliti lebih menyarankan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dalam penentuan nitrit karena pembentukan senyawa azo yang hanya membutuhkan waktu selama 3 menit. Sedangkan pembentukan senyawa azo pada reagen Griess membutuhkan waktu selama 30 menit di tempat gelap. Selain itu, reagen Griess biasa digunakan sebagai pewarna bakteri gram negatif. Kehadiran bakteri *Nitrosomonas* yang merupakan bakteri gram negatif dikhawatirkan dapat mengganggu pewarnaan yang dapat mempengaruhi nilai absorbansi sampel ikan bawal putih (*Pampus argenteus*).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dapat bertindak sebagai reagen pembentuk warna ketika direaksikan dengan nitrit, oleh karena itu reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dapat digunakan untuk menentukan kadari nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*). Sampel ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) diperoleh dari hasil tangkapan nelayan Muara Angke. Konsentrasi optimum reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida adalah 0,0021% (b/v). Kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses freeze dry saat didiamkan selama satu hari adalah sebesar 5,388ppm, sedangkan tanpa melalui freeze dry adalah sebesar 4,085ppm. Kadar nitrit dalam daging ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses freeze dry saat didiamkan selama empat belas hari adalah sebesar 28,89ppm, sedangkan tanpa melalui freeze dry adalah sebesar 18,53ppm. Semakin lama ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) didiamkan, maka konsentrasi nitrit yang terkandung semakin meningkat. Tidak terdapat perbedaan antara konsentrasi nitrit dalam daging ikan bawal (*Pampus argenteus*) yang mengalami proses *freeze dry* dan tidak mengalami proses *freeze dry*.

B. Saran

Untuk penelitian disarankan penentuan konsentrasi nitrit dalam hasil laut lain, yaitu kerang, udang, rumput laut yang berasal dari laut tercemar di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Addiscott, T., Benjamin, N. 2004. Nitrate and Human Health. *Soil Use and Management*. **20**: 98-104.
- Argonne National Laboratory, EVS. 2005. *Nitrate and Nitrite. Human Health Fact Sheet*. <http://www.epa.gov/OGWDW/dwh/c-ioc/nitrates.html>. 26 Februari 2011, pk 20:49 WIB.
- Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap. 2007. *Statistik Perikanan Tangkap di Laut Menurut Wilayah Pengelolaan Perikanan (WPP). 2002-2006*. Jakarta: Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Freedman, J. 2007. *Climate Change: Human Effects on The Nitrogen Cycle*. New York: The Rosen Publishing Group.
- Gayathri, N., Balasubramanian, N. 1999. Spectrophotometric Determination of Nitrogen Dioxide, Nitrite and Nitrate with Neutral Red. *Analisis*, **27**: 174-181.
- Greenwood, N., Earnshaw, A. 1997. *Chemistry of the Elements*. Oxford: Butterworth-Heinemann.
- Ivanov, V. 2004. The 125th Anniversary of the Griess Reagent. *Journal of Analytical Chemistry*, **59**: 1002–1005.
- Kim, S., Gladwin, T., Patel, P., Hogg, N. 2005. The Reaction Between Nitrite and Hemoglobin: the Role Hemoglobin-Mediated Hypoxic Vasodilation. *Journal Inorganic Biochemistry*. **1**: 237-246.
- Krzynowek, J., Murphy, J. 1987. *Proximate Composition, Energy, Fatty Acid, Sodium and Cholesterol Content of Finfish, Shellfish and Their Product*. New York: Department of Commerce.
- L'hirondel, J. 2002. *Nitrate and Man: Toxic, Harmless or Beneficial*. New York: CABI Publishing.

- Lewis, W., Morris, D. 1986. Toxicity of Nitrite to Fish: A Review. *Transactions of the American Fisheries Society*. **115**: 183-195.
- Marschner, H. 1999. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press.
- Michalsky, R., Kurzyca, I. 2006. Determination of Nitrogen Species (Nitrate, Nitrite and Ammonia Ions) in Environmental Samples. *Polish Journal of Environmental Studies*. **15**: 5-18.
- Murata, M., Ishinaga, M. 2001. Daily Intakes of Nitrate and Nitrite in Middle-Aged Men by The Duplicate Portion Method. *Journal of The Food Hygienic*. **42**: 5-9.
- Pauly, D., Martosubroto, P. 1996. *Baseline Studies of Biodiversity: The Fish Resources of Western Indonesia*. Jakarta: Directorate General of Fisheries, Indonesia.
- Prartono, T., Hasena, T. 2009. Kinetic Study of Phosphor and Nitrogen Compounds From Sedimentary Re-Suspension. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **1**: 1-8.
- Rhodes, D. 2009. *Nitrate Uptake and Reduction*. West Laffayette: Purdue University.
- Rogers, M., Vaughan, T., Davis, S. 1995. Consumption of Nitrate, Nitrite, and Nitrosodimethylamine and The Risk of Upper Aerodigestive Tract Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. **4**: 29-36.
- Romano, N., Zeng, C. 2007. Acute toxicity of sodium nitrate, potassium nitrate and potassium chloride and their effects on the hemolymph composition and gill structure of early juvenile blue swimmer crabs. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **26**: 1955–1962.

Ruse, M. 1999. *Nitrates and Nitrites*.
<http://www.inchem.org/nitrates&nitrites.html>. 25 Februari 2011, pk
20:58 WIB.

Sharpe, S. 2009. *Nitrite Poisoning*.
<http://freshaquarium.about.com/cs/disease/p/nitritepoison.htm>, 26
Februari 2010, pk. 20.40 WIB.

Skoog, D. 2004. *Fundamental of Analytical Chemistry*. Philadelphia:
Saunders College Publication.

LAMPIRAN

Lampiran 1

BAGAN PROSEDUR PERCOBAAN

A. Optimasi konsentrasi dalam penentuan nitrit

2mL 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dengan konsentrasi 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004% atau 0,005%

- ditambah 1mL H₂SO₄ 4,25M
- ditambah 1mL KBr 1%
- dimasukkan dalam labu ukur 25mL
- ditambah 10mL larutan nitrit 1ppm
- ditambah 1mL NaH₂PO₂ 1%

campuran

- diencerkan hingga tanda batas
- diukur absorbansi pada $\lambda=545\text{nm}$

Data absorbansi

B. Pembuatan kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit menggunakan reagen 3-1mina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

2mL 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida yang telah dioptimasi konsentrasinya

- ditambah 1mL H₂SO₄ 4,25M
- ditambah 1mL KBr 1%
- dimasukkan dalam labu ukur 25mL
- ditambah 10mL larutan standar nitrit 1ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm, 25ppm, 30ppm, 40ppm dan 45ppm
- ditambah 1mL NaH₂PO₂ 1%

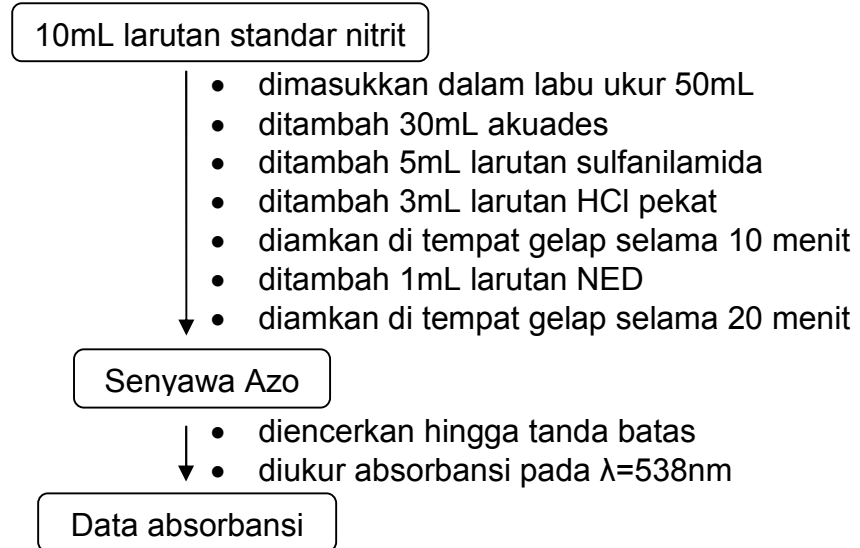
campuran

- diencerkan hingga tanda batas
- diukur absorbansi pada $\lambda=545\text{nm}$

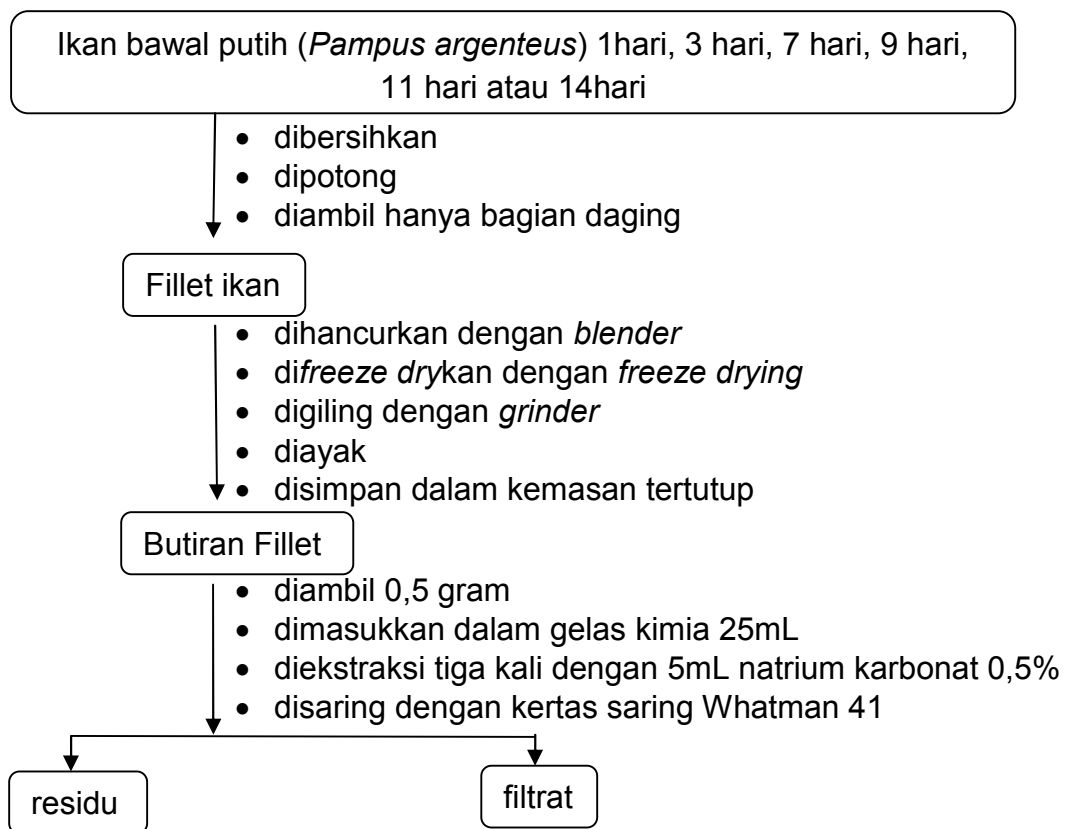
Data absorbansi

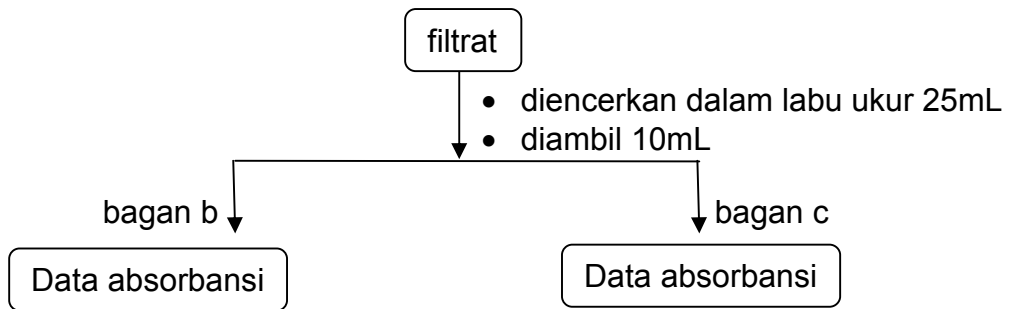
Kurva absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit

C. Pembuatan kurva kalibrasi absorbansi vs konsentrasi larutan standar nitrit menggunakan reagen Griess

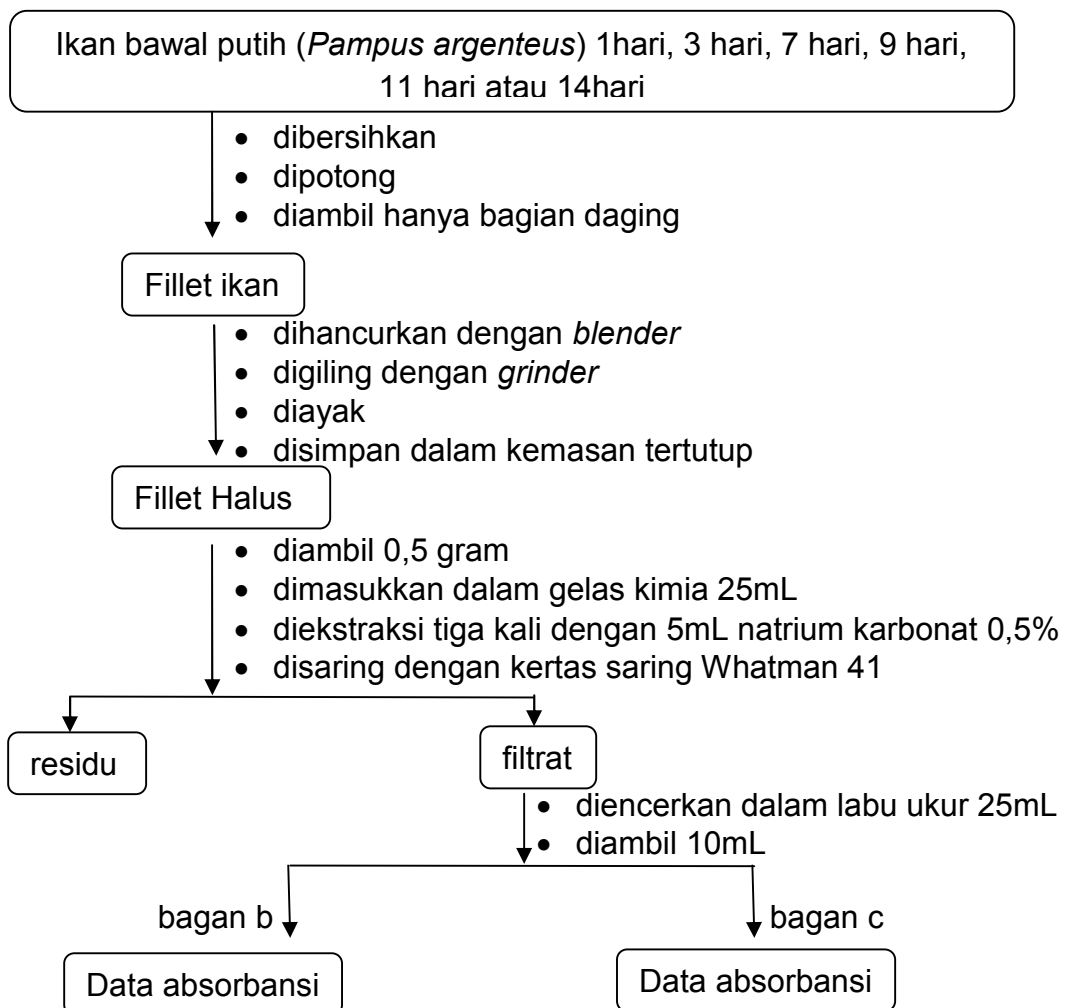


D. Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry*





E. Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry*



Lampiran 2

Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Hari	1	3	7	9	11	14
Absorbansi 1	0,028	0,056	0,087	0,126	0,143	0,160
Absorbansi 2	0,030	0,057	0,097	0,127	0,146	0,163
Absorbansi 3	0,033	0,058	0,099	0,130	0,151	0,165
Rata-rata absorbansi	0,030	0,057	0,094	0,128	0,147	0,163
Konsentrasi (ppm)	5,388	10,12	16,76	22,68	26,05	28,89

Lampiran 3

Uji normalitas data pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hari	.155	6	.200*	.973	6	.909
Konsentrasi	.181	6	.200*	.946	6	.707

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 4

Uji korelasi Pearson pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

		hari	konsentrasi
hari	Pearson Correlation	1	.991**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	6	6
konsentrasi	Pearson Correlation	.991**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	6	6

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 5

Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Hari	1	3	7	9	11	14
Absorbansi 1	0,023	0,043	0,064	0,088	0,096	0,102
Absorbansi 2	0,023	0,043	0,068	0,089	0,098	0,104
Absorbansi 3	0,023	0,044	0,069	0,089	0,099	0,107
Rata-rata absorbansi	0,023	0,043	0,067	0,089	0,098	0,104
Konsentrasi (ppm)	4,085	7,697	11,90	15,75	17,35	18,53

Lampiran 6

Uji normalitas data pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hari	.155	6	.200*	.973	6	.909
konsentrasi	.211	6	.200*	.924	6	.538

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 7

Uji korelasi Pearson pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida

Correlations

		hari	konsentrasi
hari	Pearson Correlation	1	.981**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	6	6
konsentrasi	Pearson Correlation	.981**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	6	6

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 8

Uji t tidak berpasangan pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida melalui proses *freeze dry* dan tanpa melalui proses *freeze dry*

Lampiran 9

Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen Griess

Hari	1	3	7	9	11	14
Absorbansi 1	0,029	0,054	0,094	0,131	0,151	0,170
Absorbansi 2	0,031	0,060	0,095	0,131	0,154	0,170
Absorbansi 3	0,033	0,060	0,096	0,139	0,154	0,172
Rata-rata absorbansi	0,031	0,058	0,095	0,134	0,153	0,171
Konsentrasi (ppm)	5,150	9,635	15,78	22,20	25,42	28,35

Lampiran 10

Uji normalitas data pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen Griess

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
hari	.155	6	.200*	.973	6	.909
konsentrasi	.186	6	.200*	.945	6	.703

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 11

Uji t berpasangan pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan reagen Griess

Lampiran 12

Penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen Griess

Hari	1	3	7	9	11	14
Absorbansi 1	0,024	0,043	0,067	0,091	0,100	0,106
Absorbansi 2	0,024	0,043	0,070	0,093	0,102	0,107
Absorbansi 3	0,024	0,045	0,070	0,094	0,103	0,109
Rata-rata absorbansi	0,024	0,044	0,069	0,093	0,102	0,107
Konsentrasi (ppm)	3,987	7,254	11,46	15,39	16,89	17,83

Lampiran 13

Uji normalitas data pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* dengan variasi waktu penyimpanan menggunakan reagen Griess

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
hari	.155	6	.200*	.973	6	.909
konsentrasi	.220	6	.200*	.914	6	.462

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 14

Uji t berpasangan pada penentuan kadar nitrit dalam ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) tanpa melalui proses *freeze dry* menggunakan reagen 3-amina-7-dimetilamina-2-metilfenazin hidroklorida dan reagen Griess