

Verifikasi Metode Uji Lemak Pakan Buatan

Method Verification of Artificial Feed Lipid Analysis

Asmariyani*, Amriani, Haslianti

Laboratorium Pengujian, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara

*)Penulis untuk korespondensi: asma.riani_fish06@yahoo.com

ABSTRACT

Verification method is required to generate data analysis with accurate and precise value corresponding to the standard method. This study aims to verify fat analysis method by using direct extraction method. The study was conducted in Laboratorium Pengujian, FPIK, Universitas Halu Oleo. Fat analysis method verified was direct extraction method or Soxhlet method. The results showed that all precision values from experiments I-VIII, consisting of repeatability and reproductibility, have RSD values (0.03 – 0.14) lower than 2/3 RSD Horwitz (1.99). The accuracy results (% Recovery) indicated similarly RSD, lower than 2/3 RSD Horwitz (1.33). Based on these results, it can be concluded that fat analysis method used in Laboratorium Pengujian, meet the precise and accuracy standard, and generates valid data and accounted for.

Keywords: Fat analysis, Soxhlet, verification

ABSTRAK

Verifikasi metode diperlukan untuk menghasilkan hasil analisis dengan nilai akurasi dan presisi yang sesuai dengan persyaratan pada metode uji yang diacu. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi metode pengujian lemak menggunakan metode ekstraksi langsung. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pengujian, FPIK, Universitas Halu Oleo. Metode uji lemak yang diverifikasi yaitu ekstraksi secara langsung atau metode Soxhlet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai presisi seluruh percobaan (I-VIII) yang terdiri dari riptabilitas dan reproduibilitas memiliki nilai RSD lebih kecil (pada kisaran 0.03 – 0.14) daripada 2/3 RSD Horwitz (1.99). Hasil uji akurasi (% Recovery) juga mengindikasikan hal yang serupa yaitu nilai RSD lebih kecil daripada 2/3 RSD Horwitz (1.33). Dari hasil pengujian ini dapat disimpulkan bahwa metode uji lemak yang dilakukan di laboratorium pengujian memenuhi persyaratan uji presisi dan akurasi dan menghasilkan data yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan.

Kata kunci: Uji lemak, Soxhlet, verifikasi

PENDAHULUAN

Verifikasi metode pengujian merupakan salah satu upaya yang dilakukan untuk menghasilkan data yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan. Selain untuk menghasilkan data valid, verifikasi metode juga bertujuan untuk menghasilkan data kinerja pada suatu laboratorium yang dapat dijadikan sebagai rujukan laboratorium bersangkutan mengingat setiap laboratorium memiliki kondisi, peralatan dan kompetensi laboran yang bervariasi yang tentu akan menghasilkan data hasil uji yang berbeda-beda. Verifikasi memegang peranan penting dalam menghasilkan hasil analisis dengan nilai akurasi dan presisi yang sesuai dengan persyaratan pada metode uji yang diacu.

Menurut Rose dan Oscroft (1993), ribuan pengukuran analitik telah dilakukan pada laboratorium, namun diperkirakan sekitar 10-30% dari semua pengukuran tidak valid karena *error*.

Data antar laboratorium atau antara analisis menunjukkan adanya variasi hasil pada sampel yang sama. Peralatan yang tidak tepat, personel yang tidak terlatih, maupun peralatan yang tidak dikalibrasi merupakan sumber dari adanya perbedaan tersebut. Kegiatan validasi atau verifikasi metode perlu dilakukan agar suatu metode memiliki tingkat kepercayaan yang tinggi dan sesuai dengan persyaratan metode yang baik sehingga dapat digunakan untuk analisis rutin. Laboratorium pengujian perlu melakukan verifikasi metode

secara rutin dalam kurun waktu tertentu untuk menjaga kualitas dan akurasi data yang dihasilkan serta mempertahankan konsistensi dan mengontrol kinerjanya. Laboratorium pengujian Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan merupakan laboratorium yang melakukan pengujian untuk berbagai macam analisis seperti proximat yang salah satunya yaitu uji lemak. Lemak merupakan suatu senyawa yang terbentuk dari glicerol asam lemak (asam karbosilat) dan mempunyai sifat sebagai senyawa yang tak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik non-polar seperti hidrokarbon atau dietileter. Dalam proses uji lemak, lemak dapat dihitung dengan menggunakan berbagai macam metode analisis diantaranya dengan metode ekstraksi langsung. Metode ini juga dikenal dengan sebutan metode Soxhlet. Prinsip dari metode ini yaitu ekstraksi lemak dengan pelarut lemak seperti petroleum benzena, petroleum eter, aseton dan lainnya. Berat lemak kemudian ditentukan dengan cara memisahkan lemak dengan pelarutnya.

Metode pengujian lemak melalui ekstraksi langsung dapat digunakan untuk menganalisis sampel padat seperti pakan buatan untuk ikan. Analisis kadar lemak pakan menjadi bagian krusial untuk menentukan kualitas pakan buatan yang dihasilkan. Untuk menghasilkan data yang akurat dan menjaga mutu hasil uji laboratorium maka, kegiatan verifikasi metode analisa dipandang perlu untuk dilakukan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk meverifikasi metode lemak dengan ekstraksi langsung.

METODE PENELITIAN

Prosedur Kerja Uji Lemak (Metode Ekstraksi Langsung)

Sample sebanyak 7-10 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam selongsong kertas yang disumbat dan dialasi dengan kapas. Sampel dimasukkan ke dalam soxhlet yang dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan diketahui bobotnya. Sampel diekstraksi menggunakan heksana (selama lebih kurang 6 jam), kemudian heksana disulingkan dan ekstrak

lemak dikeringkan dalam oven pengering pada suhu 105 °C. Ekstrak lemak didinginkan dan ditimbang (pengeringan diulangi hingga tercapai bobot tetap). Kadar lemak dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = bobot contoh (g)

W₁ = bobot labu sebelum ekstraksi (g)

W₂ = bobot labu sesudah ekstraksi (g)

Parameter Verifikasi

Presisi

Ripitabilitas

Uji ripitabilitas pada analisis kadar lemak pakan buatan ditentukan dengan cara mengukur nilai masing-masing kadar lemak sebanyak delapan kali ulangan dari masing-masing percobaan. Nilai uji ripitabilitas dinyatakan dalam nilai persen standar deviasi relatif (RSD) dan RSD Horwitz. Syarat keterimaan uji ripitabilitas yaitu apabila nilai RSD analisis lebih kecil dari pada nilai 2/3 kali RSD Horwitz (Pomeranz dan Meloan 1994; Garfield *et al.* 2000)

Reprodusibilitas

Uji reprodusibilitas kadar lemak dilakukan oleh analis dengan waktu interval tertentu pada laboratorium yang sama. Uji ini ditentukan dengan menghitung nilai RSD dari rata-rata ulangan dari masing-masing percobaan dari percobaan I hingga VIII dan membandingkannya dengan nilai RSD Horwitz. Syarat keterimaan uji reprodusibilitas yaitu apabila nilai RSD analisis lebih kecil dari pada nilai 2/3 kali RSD Horwitz.

Akurasi (% Recovery)

Uji akurasi untuk percobaan analisa kadar lemak dilakukan dengan melihat persen kembali (PK, % *recovery*) berdasarkan persentase kadar lemak dari formulasi pakan yang digunakan saat membuat pakan. Hal ini dilakukan karena tidak dimilikinya bahan acuan tersertifikasi (*Certified Reference Material/CRM*). Nilai PK bergantung pada matriks sampel. Batas penerimaan PK untuk

konsentrasi analit 10% adalah 95-102% menurut (Huber 2001). Kisaran konsentrasi analit yang digunakan adalah 10% didasarkan pada persentase kadar lemak yang diformulasikan dalam pakan yaitu 7,61%.

Analisa Data

Analisis statistic sederhana berupa perhitungan rata-rata, standar deviasi, *relative standard deviation* (RSD), dan RSD Horwitz dilakukan dengan menggunakan program Microsoft Excel 2013. Selain itu, digunakan analisis ragam (ANOVA) pada tahap uji banding untuk menentukan akurasi metode pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Suatu laboratorium yang mengaplikasikan metode standar yang telah divalidasi oleh lembaga nasional maupun internasional, idealnya memerlukan validasi metode meskipun hanya mencakup aspek-aspek tertentu. Berbagai macam bentuk validasi, salah satunya yaitu dengan verifikasi metode validasi; metode dengan aspek pengujian terbatas (Hadi 2007). Adapun aspek yang perlu dilakukan dalam kegiatan verifikasi metode yaitu berdasarkan pada uji

presisi meliputi riptabilitas dan reproduisibilitas serta uji akurasi (% *recovery*).

Presisi

Riptabilitas

Hasil uji riptabilitas analisis kadar lemak dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisa, nilai RSD metode analisis kadar lemak pada percobaan I-VIII berturut-turut yaitu 0,08; 0,06; 0,03; 0,04; 0,13; 0,14; 0,12 dan 0,05. Nilai RSD ini digunakan untuk menentukan tingkat ketelitian metode yang sedang diuji dengan membandingkan standar nilai RSD berdasarkan Nielsen (2003) yang mana jika nilainya berada dibawah 5% maka RSD tersebut dapat diterima, serta berdasarkan Horwitz dengan batas RSD yaitu 2/3 RSD Horwitz. Pada perhitungan menggunakan rumus Horwitz, nilai RSD metode pengujian pada percobaan I-VIII (0.03–0.14) lebih kecil dari pada 2/3 RSD Horwitz (1,99). Hasil ini menunjukkan bahwa analisis kadar lemak yang digunakan telah memenuhi syarat riptabilitas yang mengindikasikan bahwa analisis kadar lemak yang dilakukan oleh analisis di laboratorium dalam interval waktu tertentu memiliki derajat kesesuaian antara hasil uji individual yang baik.

Table 1. Uji riptabilitas kadar lemak Percobaan I-VIII.

Ulangan	% Kadar Lemak Percobaan ke-							
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
1	6,97	6,96	6,97	6,97	6,96	6,95	6,96	6,97
2	6,97	6,96	6,97	6,97	6,96	6,96	6,96	6,97
3	6,97	6,96	6,97	6,97	6,98	6,97	6,97	6,97
4	6,97	6,98	6,97	6,96	6,97	6,97	6,97	6,98
5	6,96	6,97	6,97	6,97	6,98	6,97	6,97	6,97
6	6,95	6,97	6,97	6,97	6,98	6,98	6,98	6,97
7	6,97	6,97	6,98	6,97	6,98	6,98	6,98	6,97
8	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97
Rata-rata	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97
SD	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00
RSD	0,08	0,06	0,03	0,04	0,13	0,14	0,12	0,05
RSD _{Horwitz}	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99
2/3 RSD _{Horwitz}	1,99	1,99	1,99	1,99	1,99	1,99	1,99	1,99

Reprodusibilitas

Hasil perhitungan nilai RSD dan 2/3 RSD Horwitz disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan hasil perhitungan, nilai RSD untuk uji reprodusibilitas dari percobaan I-VIII yaitu sebesar 0.003 dan nilai 2/3 RSD Horwitz yaitu 1,99. Hal ini mengindikasikan bahwa metode uji untuk pengujian kadar lemak telah memenuhi syarat uji

reprodusibilitas yang dibuktikan dengan nilai RSD analisis lebih kecil daripada nilai 2/3 RSD Horwitz. Hal ini menunjukkan bahwa analisis kadar lemak memiliki derajat kesesuaian antara hasil uji individual yang baik yang dilakukan oleh analis dan laboratorium yang sama dengan waktu interval tertentu.

Table 2. Rata-rata kadar lemak dari tiap unit percobaan.

Percobaan ke-	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Rata-rata	SD	RSD	RSD Horwitz	2/3 RSD Horwitz
Rata-Rata Kadar Lemak (%)	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	0,002	0,03	2,99	1,99

Akurasi (% Recovery)

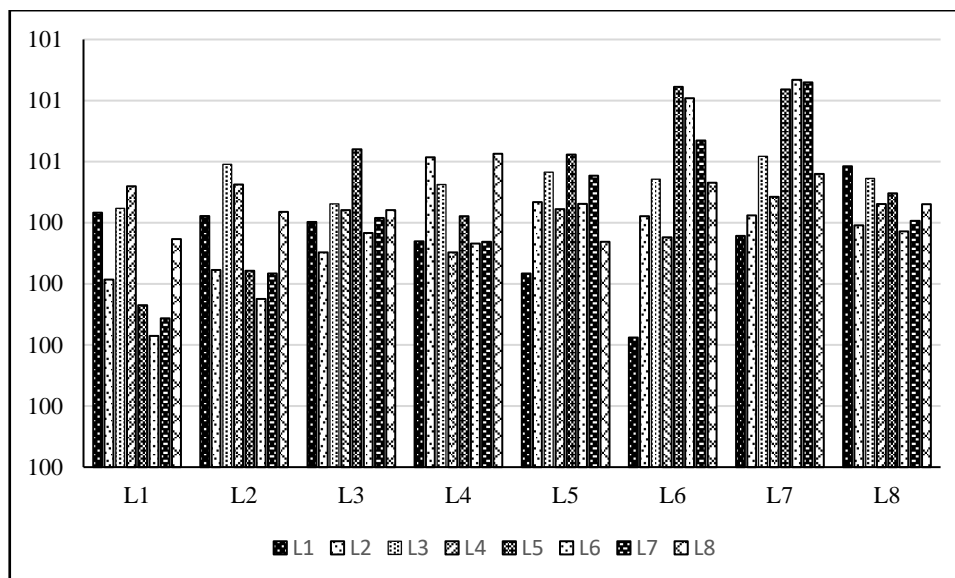
Hasil uji akurasi pengujian metode analisa kadar lemak disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 1. Dari hasil yang diperoleh, nilai PK untuk setiap percobaan dapat diterima yang dibuktikan dari nilai PK yang berkisar antara 98-102. Persen perolehan kembali ini menyatakan bahwa analisis kadar lemak yang dilakukan oleh analis memiliki derajat kedekatan hasil analisis yang baik dengan kadar yang sebenarnya, sehingga memenuhi persyaratan uji akurasi. Begitu pula dengan nilai RSD yang diperoleh dari PK, lebih kecil dari 2/3 RSD Horwitzs.

Analisis Statistik (ANOVA)

Analisis statistik ditujukan untuk menentukan apakah ada perbedaan signifikan dari hasil yang diperoleh pada tiap percobaan dari percobaan I-VIII. Berdasarkan hasil uji ANOVA mengindikasikan bahwa tidak ada perbedaan signifikan hasil analisa % kadar lemak yang diperoleh dari percobaan I-VIII. Hal ini terlihat dari nilai P yang lebih besar dari $\alpha=0,05$ ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji kadar lemak yang dilakukan oleh analis tidak memiliki perbedaan yang signifikan antar percobaan yang dilakukan pada waktu yang berbeda.

Tabel 3. Persen kembali (% recovery) analisa kadar lemak Percobaan I-VIII.

Ulangan	PK Percobaan ke-							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	100	100	100	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	101	100	100	100
4	100	101	100	100	100	100	100	101
5	100	100	100	100	101	100	100	100
6	100	100	100	100	101	101	101	100
7	100	100	101	100	101	101	101	100
8	100	100	100	100	100	100	100	100
Rata-rata	100,37	100,39	100,47	100,42	100,46	100,41	100,42	100,43
SD	0,08	0,06	0,03	0,04	0,13	0,15	0,12	0,05
RSD	0,08	0,06	0,03	0,04	0,13	0,14	0,12	0,05
RSD Horwitz	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
2/3 RSD Horwitz	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33



Gambar 1. Nilai RSD dan $2/3 RSD_{Horwitz}$ dari persen kembali analisa kadar lemak (series=ulangan).

Tabel 4. Uji ANOVA terhadap analisa kadar lemak Percobaan I-VIII.

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,0002	7	0,00003	0,83	0,56	2,18
Within Groups	0,0023	56	0,00004			
Total	0,0026	63				

KESIMPULAN

Metode pengujian kadar lemak dengan menggunakan ekstraksi langsung atau metode soxhlet menunjukkan bahwa Pada uji presisi, nilai RSD rpitabilitas dan reproduisibilitas lebih kecil daripada $2/3 RSD_{Horwitz}$. Begitupula dengan nilai akurasi ($\% recovery$), nilai RSD berada dibawah nila $2/3 RSD_{Horwitz}$. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa metode pengujian kadar lemak dengan ekstraksi langsung yang dilakukan oleh analis di Laboratorium Pengujian, FPIK, UHO telah memenuhi syarat uji presisi dan akurasi yang dapat menghasilkan data kadar lemak yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standar Nasional Indonesia (SNI). 1992. *Metode Pengujian Kadar Lemak*. SNI 01-2891-1992.
- Cen T. 2008. *Verifikasi Metode Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Natrium Benzoate*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Garfield FG dan Hirsch EKJ. 2000. *Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories*. USA: AOAC International.
- Hadi A. 2007. *Pemahaman dan Penerapan ISO/IEC 17025:2005*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Huber L. 2001. Validation of analytical methods. <http://www.labcompliance.com>. [6 Maret 2008].
- Nielsen SS. 2003. *Introduction to Food Analysis*. Di dalam Nielsen SS. (ed.). *Food Analysis 3rd ed*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Pomeranz Y dan Meloan CE. 1994. *Food Analysis Theory and Practice 3rd Edition*. New York: Chapman and Hall.
- Rose DE dan Ocroft CA. 1993. The Benefits of Laboratory Accreditation. *Food Technology International Europe*: 189-192.