# VALIDASI METODE WALKLEY-BLACK UNTUK PENETAPAN C-ORGANIK PADA SAMPEL TANAH MENGGUNAKAN SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS

# METHOD VALIDATION OF THE WALKLEY–BLACK FOR DETERMINATION OF ORGANIC CARBON CONTENT IN SOIL USING UV–VIS SPECTROPHOTOMETRY

**Gladys Carmia Puspita*, Subur P. Pasaribu, Aman Sentosa Panggabean**
Progam Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jln. Barong Tongkok No. 4 Kampus Gn Kelua Samarinda, 75123
*Corresponding Author : gladyspuspita1@gmail.com

## ABSTRACT

The determination of organic carbon (C-organic) content in soil is an important indicator for evaluating soil fertility and environmental quality. This study aims to validate the Walkley–Black method using UV-Vis spectrophotometry for the determination of C-organic content in oil palm plantation soil. The analysis was carried out through the oxidation of organic matter using $K_2Cr_2O_7$ under acidic conditions, and the reduction of $Cr^{6+}$ to $Cr^{3+}$ ions was measured at a wavelength of 587 nm. The validation parameters evaluated included linearity, accuracy, precision, limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ). The calibration curve produced a linear regression equation of y = 0.0016x + 0.0044 with an $R^2$ value of 0.9967, indicating excellent linearity. The accuracy test resulted in an average recovery of 98.09%, which falls within the AOAC acceptance range (80–115%), while the precision test yielded an RSD value of 1.50%, showing high repeatability. The calculated LOD and LOQ values were 1.3669 ppm and 3.3407 ppm, respectively, indicating good sensitivity. Based on these results, the Walkley–Black method using UV-Vis spectrophotometry meets analytical validation criteria and is reliable and efficient for determining organic carbon content in oil palm plantation soil.
**Keywords:** Walkley–Black, C-organic, UV-Vis spectrophotometry, Method validation, Soil

## ABSTRAK

Penentuan kadar karbon organik (C-organik) pada tanah merupakan indikator penting dalam menilai kesuburan tanah dan kualitas lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode Walkley–Black menggunakan spektrofotometri UV-Vis dalam penetapan kadar C-organik pada perkebunan kelapa sawit. Analisis dilakukan melalui proses oksidasi bahan organik menggunakan $K_2Cr_2O_7$ dalam suasana asam, kemudian hasil reduksi ion $Cr^{6+}$ menjadi $Cr^{3+}$ diukur pada panjang gelombang 587 nm. Parameter validasi yang diuji meliputi linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil kurva kalibrasi menunjukkan persamaan regresi linear y = 0.0016x + 0.0044 dengan nilai $R^2$ sebesar 0,9967 yang menandakan hubungan linear yang sangat baik. Uji akurasi menghasilkan nilai perolehan kembali rata-rata sebesar 98,09%, sesuai dengan rentang AOAC (80–115%), sedangkan uji presisi menunjukkan nilai RSD sebesar 1,50% yang menandakan tingkat ketelitian tinggi. Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh masing-masing sebesar 1.3669 ppm dan 3.3407 ppm, menunjukkan sensitivitas metode yang baik. Berdasarkan hasil tersebut, metode Walkley–Black menggunakan spektrofotometri UV-Vis memenuhi kriteria validasi analisis dan layak diterapkan untuk penentuan kadar C-organik pada perkebunan kelapa sawit secara andal dan efisien.
**Kata kunci:** Walkley–Black, C-organik, Spektrofotometri UV-Vis, Validasi metode, Tanah

## PENDAHULUAN

Karbon organik (C-organik) merupakan parameter penting dalam penilaian kesuburan tanah karena berperan dalam meningkatkan struktur tanah, kapasitas tukar kation, aktivitas mikroorganisme, serta kemampuan tanah menyimpan air. Pada lahan perkebunan kelapa sawit, kegiatan pengelolaan yang intensif sering menyebabkan penurunan kandungan bahan organik, sehingga pemantauan kadar C-organik perlu dilakukan secara akurat dan berkelanjutan. Untuk tujuan tersebut, metode Walkley–Black menjadi salah satu metode yang paling umum digunakan dalam analisis C-organik tanah. [1]

Secara historis, metode Walkley–Black dikembangkan sebagai metode titrasi yang didasarkan pada proses oksidasi bahan organik menggunakan larutan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) dalam suasana asam pekat. Pada metode ini, jumlah $K_2Cr_2O_7$ yang bereaksi dengan bahan organik akan berkurang, dan sisa $K_2Cr_2O_7$ yang tidak bereaksi kemudian dititrasi menggunakan larutan ferrous ammonium sulfat (FAS). Perbedaan antara jumlah $K_2Cr_2O_7$ awal dan akhir titrasi digunakan untuk menghitung kadar C-organik tanah. [2] Meskipun teknik ini sederhana dan banyak digunakan, metode titrasi Walkley–Black memiliki beberapa keterbatasan, seperti efisiensi oksidasi yang tidak selalu sempurna, sensitivitas yang terbatas, serta ketergantungan pada subjektivitas pembacaan titik akhir titrasi[3]

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode Walkley–Black yang dimodifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk penetapan kadar C-organik pada tanah perkebunan kelapa sawit. Penerapan metode ini telah dilakukan di berbagai laboratorium lingkungan dengan acuan standar IK.7.2.66, oleh karena itu perlunya dilakukan validasi pada metode ini. Parameter validasi yang dievaluasi meliputi linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ). Validasi diperlukan untuk memastikan bahwa metode modifikasi ini mampu memberikan hasil yang andal, sensitif, dan sesuai untuk analisis rutin tanah.

## METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan memanfaatkan serangkaian alat laboratorium seperti spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, pipet volumetrik, mikropipet, serta peralatan gelas lainnya sebagai penunjang proses analisis. Bahan yang digunakan meliputi glukosa p.a sebagai standar, larutan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) 2 N sebagai oksidator, asam sulfat pekat sebagai penghasil suasana asam, aquades, serta dua sampel tanah sawit yang diberi kode X dan Y. Penelitian diawali dengan pembuatan larutan $K_2Cr_2O_7$ 2N dan larutan induk glukosa pada konsentrasi tertentu yang kemudian digunakan untuk menyiapkan deret larutan standar GLUOSA 0-250 ppm . Larutan standar tersebut ditambahkan $K_2Cr_2O_7$ dan $H_2SO_4$, kemudian didiamkan sebelum diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 587 nm. Hasil pengukuran absorbansi digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi yang menjadi dasar perhitungan konsentrasi C-Organik.

Selanjutnya dilakukan proses validasi metode yang meliputi pengujian linearitas, presisi, akurasi, serta penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi. Uji presisi dilakukan melalui pengulangan preparasi sampel sebanyak lima kali untuk masing-masing sampel tanah, sehingga diperoleh kestabilan nilai absorbansi dan kadar C-Organik. Akurasi diuji menggunakan metode penambahan spike pada beberapa tingkat konsentrasi untuk melihat persen perolehan kembali. Nilai LoD dan LoQ ditentukan dari pengukuran blanko secara berulang sehingga diperoleh simpangan baku sinyal dasar. Tahap akhir penelitian yaitu analisis kadar C-Organik pada sampel tanah X dan Y, di mana sampel direaksikan dengan $K_2Cr_2O_7$ dan $H_2SO_4$, didiamkan selama satu hari, kemudian absorbansinya diukur dan dihitung menggunakan persamaan regresi hasil kurva standar. Hasil yang diperoleh kemudian dikonversi menjadi persen C-Organik sehingga dapat menggambarkan kandungan bahan organik pada masing-masing sampel tanah.

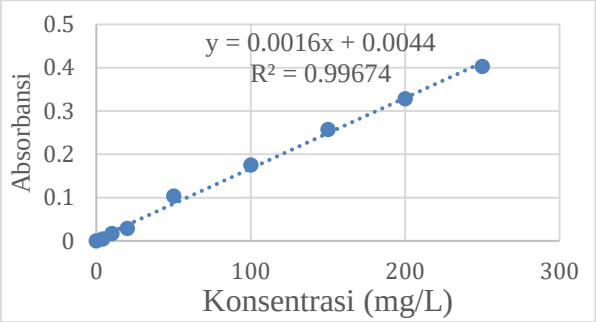
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan panjang gelombang maksimum menunjukkan bahwa kompleks ion $Cr^{3+}$ memiliki serapan tertinggi pada 584 nm, sehingga panjang gelombang tersebut digunakan sebagai panjang gelombang kerja. Pengukuran pada deret standar menghasilkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = 0{,}0016x + 0{,}0044$ dan nilai $R^2$ sebesar 0,9967. Nilai ini memenuhi kriteria linearitas AOAC 2002 [4], yang menegaskan bahwa metode memberikan hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi pada rentang yang diuji.

Hasil validasi menunjukkan bahwa metode memiliki sensitivitas yang baik, tercermin dari nilai LoD sebesar 1,36 ppm dan LoQ sebesar 3,34 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa metode mampu mendeteksi dan mengukur analit pada kadar rendah dengan tingkat kehandalan yang memadai. Uji presisi menghasilkan nilai %RSD sebesar 1,50% untuk sampel X dan 1,87% untuk sampel Y, keduanya berada di bawah batas penerimaan 2%, sehingga menunjukkan bahwa metode memberikan hasil yang stabil dan konsisten. Uji akurasi melalui metode penambahan standar memberikan nilai perolehan kembali dalam rentang 98,37–99,09%, sesuai dengan ketentuan AOAC sehingga metode dinyatakan akurat.

Analisis kadar C-organik pada dua sampel tanah sawit menunjukkan bahwa sampel X memiliki kadar C-organik sebesar 1,31–1,37%, sedangkan sampel Y sebesar 0,84–0,88%. Berdasarkan klasifikasi kesuburan tanah, sampel X berada pada kategori sedang, sedangkan sampel Y termasuk kategori rendah [5]. Perbedaan kadar ini mengindikasikan adanya variasi kandungan bahan organik pada lokasi pengambilan sampel, yang dapat dipengaruhi oleh kondisi lahan dan aktivitas biologis tanah.

Secara keseluruhan, seluruh parameter validasi memenuhi syarat keberterimaan, yang menunjukkan bahwa metode Walkley–Black berbasis spektrofotometri UV-Vis layak digunakan sebagai metode kuantitatif untuk analisis C-organik pada tanah perkebunan sawit. Metode ini tidak hanya memberikan hasil yang akurat dan presisi, tetapi juga menawarkan prosedur yang lebih cepat dan objektif dibandingkan metode titrasi konvensional. Beikut adalah grafik kurva standar glukosa 0-250 ppm.




**Gambar 1**. Kurva standar glukosa 0-250 ppm

**Tabel 1.** Pengukuran LoD dan LoQ

| **Parameter** | **Pengukuran LoD dan LoQ** | | |
|---|---|---|---|
| | **Perhitungan** | **Keterangan** | **Hasil** |
| Limit Deteksi (LoD) | μ *blank* | Rata-rata hasil pengukuran blanko dibagi n=7 | 0,00043 |
| | σ blank | Simpangan baku hasil pengukuran blanko | 0.00053 |
| | LoB | μ *blank* + 1,645 × σ | μ *blank* + 1,645 × σ |
| LoD | μ *blank x* 3 / slope | **1.3669 ppm** | |
| LoQ | σ blank x 10/slope | **3.3407 ppm** | |

**Tabel 2.** Pengujian Akurasi

| **Level** | **%R rata-rata** | **Batas keberterimaan** | **Keterangan** |
|---|---|---|---|
| 10 | 98.87 | 85-110 % | Diterima |
| 30 | 99.50 | 85-110 % | Diterima |
| 50 | 99.08 | 85-110 % | Diterima |

**Tabel 3.** Pengujian Presisi

| **Sampel** | **C-Organik** | **Sampel** | **C -Organik** |
|---|---|---|---|
| X1 | 1.34 | Y1 | 0,84 |
| X2 | 1.31 | Y2 | 0.87 |
| X3 | 1.36 | Y3 | 0.88 |
| X4 | 1.35 | Y4 | 0.87 |
| X5 | 1.35 | Y5 | 0.88 |
| Rata-rata | 1.34 | Rata-rata | 0.87 |
| %RSD | 1.50 | %RSD | 0.87 |

| Sampel | C-Organik | Sampel | C -Organik |
|---|---|---|---|
| 0.5 CV H | 1.91 | 0.5 CV H | 2.04 |

**Tabel 4.** Evaluasi Kerja Kinerja Analitik

| Parameter | Kerja Kinerja Analitik | | |
|---|---|---|---|
| | Hasil Perhitungan | Batas Keberterimaan | Validitas |
| Linearitas | Y =0.0016x + 0.0044, r = 0.9967 | r ≥ 0.995 | Diterima |
| Limit Deteksi (LoD) | 1.3369 | LoD < LoQ | Diterima |
| Limit Kuantitasi | 3,3407 | LoD < LoQ | Diterima |
| Akurasi | 98.37-99.05% | 85-110% | Diterima |
| Presisi | 1.50- 1,87% | 2% | Diterima |

**Gambar 2**. Pengujian Linearitas

**Gambar 3**. pengujian akurasi dan presisi

## KESIMPULAN

Validasi metode Walkley–Black berbasis spektrofotometri UV-Vis terbukti valid dengan nilai linearitas $R^2$ = 0,9967, presisi %RSD sebesar 1,50% (sampel X) dan 1,87% (sampel Y), serta akurasi 98,37–99,09%. Nilai LoD dan LoQ yang diperoleh masing-masing adalah 1,36 ppm dan 3,34 ppm, menunjukkan sensitivitas yang baik. Analisis sampel tanah sawit menunjukkan bahwa kadar C-organik sampel X berada pada rentang 1,31–1,37% (kategori sedang), sedangkan sampel Y berada pada rentang 0,84–0,88% (kategori rendah). Dengan demikian, metode ini layak dan andal digunakan untuk penetapan kadar C-organik tanah.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Tanah PT. Global Environment Laboratory atas fasilitas dan dukungan yang diberikan selama proses penelitian dan analisis sampel. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Mulawarman yang telah memberikan izin, bimbingan, serta bantuan akademik selama penyusunan penelitian ini. Seluruh pihak yang telah memberikan dukungan, baik secara langsung maupun tidak langsung, penulis sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya.

**DAFTAR PUSTAKA**

[1] Triadiawarman, D. (2017). Analisis kandungan C-organik dan nitrogen di areal tanaman lai (*Durio kutejensis*) di Desa Peridan Kecamatan Sangkulirang Kabupaten Kutai Timur. *Jurnal Pertanian Terpadu*, 5(1), 98–104.

[2] Magnusson, B. (2014). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Eurachem.

[3] Germer, T. A., Zwinkels, J. C., & Tsai, B. K. (2014). Theoretical concepts in spectrophotometric measurements. Dalam *Experimental Methods in the Physical Sciences* (pp. 11–66). Elsevier.

[4] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2002). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Arlington: AOAC International.

[5] Nisma, N. W. H(2020). Kajian Sifat Kimia Tanah pada Perkebunan Sawit dengan Menggunakan Mucuna Bracteata di Pt. pp. london Sumatra Indonesia. *Agroprimatech*, *4*(1), 34–41