

PENGEMBANGAN METODE STANDAR ANALISIS LOGAM BERAT DALAM KOMPONEN BIOTA SPESIFIK PADA LINGKUNGAN PERAIRAN DARAT

Awalina, S. Sunanisari, Sulastri, Y. Mardiaty, S. Nomosatryo dan Guruh S. Ajie

ABSTRAK

Di Indonesia belum tersedia sebuah metode analisis logam berat dalam biota spesifik yang terdapat dalam lingkungan perairan darat yang telah standard dalam arti metode tersebut akan menghasilkan data yang tetap terjamin kualitasnya namun applicable dilaksanakan pada kondisi yang dimiliki oleh laboratorium Hidrokimia P2L. Biota dalam lingkungan perairan darat terbagi dalam empat kategori besar yaitu terdiri atas: aquatic microphyte, aquatic macrophyte, nekton dan benthic yang dalam proses analisis kandungan logam berat di dalamnya memerlukan penanganan spesifik sesuai dengan karakteristik masing-masing. Berkenaan dengan segala keterbatasan alat dan bahan di lab Hidrokimia P2L-LIPI, dalam analisis logam berat dengan menggunakan instrumen, selama ini sering mengalami sedikit modifikasi metode analisis yang diadopsi dari berbagai sumber seperti USEPA, APHA, ASTM, JIS, dan lain-lain. Hasil modifikasi ini tentunya belum sepenuhnya terjamin akurasi datanya karena belum secara khusus diuji secara statistik dan yang terpenting adalah belum pernah dilakukan re-kalibrasi komponen penting instrumen Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang tersedia, padahal alat tersebut telah menjalankan fungsinya dalam kurun waktu hampir 10 tahun. Re-kalibrasi sangat penting untuk menjamin kualitas data yang dihasilkan oleh instrumen masih dalam kategori bisa dipercaya. Tujuan dari kegiatan penelitian ini adalah untuk menentukan metode yang tepat dan applicable dalam analisis logam berat dalam komponen biota jenis nekton, aquatic microphyte, benthic dan aquatic macrophyte yang spesifik berada di lingkungan perairan darat dengan SSA. Adapun sasaran kegiatan penelitian ini adalah untuk menentukan metode yang tepat sesuai kondisi laboratorium hidrokimia Pusat Limnologi-LIPI (applicable) dengan menghasilkan kualitas data yang tetap terjamin.

Kata kunci : *metoda, standar, logam berat, biota, perairan darat, Spektrofotometri, nekton, aquatic microphyte, aquatic macrophytes, benthic.*

PENDAHULUAN

Latar belakang

Pada intinya, sebagian besar hasil penelitian dalam lingkup Puslit Limnologi (P2L)-LIPI menyangkut tentang interaksi komponen biotik dan abiotik yang berada di dalam lingkungan perairan darat. Laboratorium Hidrokimia adalah salah satu laboratorium yang berada di lingkungan P2L-LIPI, yang selama ini (1994-2004) telah mampu menganalisis kandungan logam berat pada air maupun sedimen yang berasal dari lingkungan perairan darat. Jenis-jenis logam yang dapat dianalisis adalah sebanyak 22 jenis termasuk antara lain mercury (Hg), cadmium (Cd), timbal (Pb), besi (Fe), mangan (Mn), khrom (Cr), dll dengan menggunakan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).

Spesimen sample dapat digolongkan kedalam tiga golongan besar jenis specimen yaitu dari *komponen kolom air, sedimen, dan biota* yang berasal dari berbagai lokasi *sampling* antara lain danau-danau, sungai, rawa, dan waduk yang

tersebar di Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, dan Jawa. Ketiga golongan besar specimen tersebut di atas masing-masing memiliki karakteristik yang khusus dan memerlukan *pretreatment* yang khusus pula.

Dalam kurun waktu 10 tahun terakhir, analisis logam berat dalam komponen air dan sedimen telah dilakukan menurut metode standar yang telah tersedia di Indonesia. Namun sayangnya, untuk analisis logam berat dalam *komponen biota perairan darat sama sekali belum tersedia metoda standar*.

Perumusan Masalah

Sampai saat ini, terdapat dua kendala utama yang dihadapi laboratorium Hidrokimia dalam menjalankan tugasnya yaitu pertama :

1. Belum tersedianya sebuah metode analisis logam berat dalam biota spesifik yang terdapat dalam lingkungan perairan darat yang telah distandarisasi dalam arti metode tersebut akan menghasilkan data yang tetap terjamin akurasi namun applicable dilaksanakan pada kondisi yang dimiliki oleh laboratorium Hidrokimia P2L. Menurut Wetzel (2001) biota perairan darat terbagi dalam empat kategori terdiri atas: aquatic macrophyte, perifiton (aquatic microphyte), nekton dan benthic. Berkenaan dengan keterbatasan alat dan bahan di lab Hidrokimia, selama ini analisis logam berat dengan menggunakan instrumen SSA seringkali mengalami sedikit modifikasi metode analisis yang diadopsi dari berbagai sumber seperti USEPA, APHA, ASTM, JIS, dan lain-lain. Hasil modifikasi ini tentunya belum sepenuhnya terjamin akurasi datanya karena belum secara khusus diuji secara statistik.
2. Belum pernah dilakukan *re-kalibrasi* komponen terpenting dalam instrumen SSA, padahal alat ini telah menjalankan fungsinya dalam kurun waktu hampir 10 tahun. Re-kalibrasi sangat penting untuk menjamin kualitas data yang dihasilkan oleh instrumen.

Tujuan dan Sasaran

Tujuan dari kegiatan penelitian ini adalah untuk menghasilkan metode analisis logam berat yang tepat dan *applicable* di terapkan di lingkungan Lab Hidrokimia yang terdiri atas metoda analisis untuk :

1. Komponen biota jenis *nekton* di lingkungan perairan darat
2. Komponen biota jenis *aquatic microphyte* di lingkungan perairan darat
3. Komponen biota jenis *benthic* di lingkungan perairan darat
4. Komponen biota jenis *aquatic macrophyte* di lingkungan perairan darat.

Adapun sasaran kegiatan penelitian ini adalah untuk menentukan metode yang tepat sesuai kondisi laboratorium hidrokimia Pusat Limnologi-LIPI (*applicable*) dengan meningkatkan performa kerja dari SSA untuk tetap menghasilkan kualitas data yang tetap terjamin

Hipotesis

Beberapa hal penting yang mutlak dilakukan pada penelitian ini adalah mengetahui sejauh mana kemampuan alat untuk menghasilkan data yang dekat dengan nilai yang sebenarnya. Ini penting dilakukan untuk menjamin akurasi dan presisi instrument. Kemudian langkah berikutnya akan dipilih beberapa metode analisis logam berat. Hal ini untuk memastikan jaminan kualitas data hasil analisis

dengan instrument tersebut dan *applicability* metode analisis tersebut di lab. Hidrokimia. Apabila telah tercapai tujuan seperti yang tersebut di atas, maka akan dilakukan verifikasi metoda dengan merujuk pada pengujian statistik yang sesuai.

METODOLOGI

Tahapan proses untuk mencapai sasaran

1. Bila memungkinkan dilakukan, out sourcing tenaga ahli dari vendor terpercaya untuk kalibrasi untuk *seluruh komponen penting* pada instrumen Spektrofotometer Serapan Atom.
2. Penilaian metode analisis logam berat dalam masing-masing kategori specimen sample dalam lingkungan perairan darat dari berbagai sumber terpercaya namun *applicable* pada lingkungan laboratorium Hidrokimia P2L-LIPI
3. Pengujian (eksperimental) metoda terpilih dengan verifikasi internal
4. Kompilasi data out put yang *reliable* untuk diuji dengan metode statistic yang sesuai dengan bantuan software yang terpercaya
5. Formulasi metode
6. Dokumentasi metode
7. Publikasi metode terpilih dalam jurnal nasional

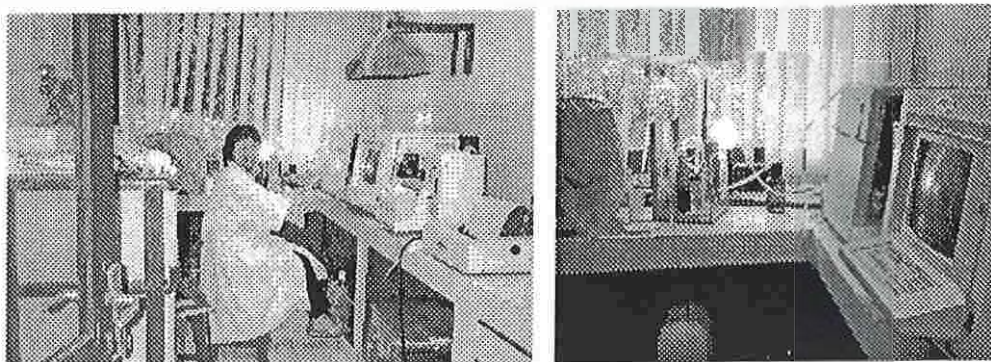
Tempat, waktu, pengambilan sample, unit analisis, cara dan alat, pengolahan data, serta uji mutu data

Seluruh kegiatan eksperimental dengan yang diawali dengan melibatkan *instrument's vendor* dalam proses rekalisasi komponen penting pada instrument Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) akan berlangsung di lab Hidrokimia bidang dinamika perairan P2L-LIPI, dalam 5 periode (2005-2009) untuk mencapai tujuan sesuai yang telah ditetapkan pada setiap tahun. Studi pustaka dalam proses pencarian "metode yang applicable" akan dilakukan antara lain dengan menggunakan sarana perpustakaan di lingkungan institusional LIPI maupun dengan sarana internet. Bila "metode yang applicable" telah dipilih maka akan dilakukan pengujian dengan verifikasi internal menggunakan instrument SSA yang telah di rekalisasi. Data hasil pengukuran yang reliable kemudian akan dikompilasi sampai memenuhi syarat untuk diuji kelayakan aplikasi metode tersebut dengan menggunakan software statistic yang sesuai.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan proses pemilihan metoda standar.

Sesuai dengan ketersediaan dana yang kurang memadai maka target kegiatan tahun 2005 ini hanya pada *pembuatan metoda standar analisis logam Hg yang terkandung dalam biota perairan darat*. Untuk analisis logam Hg dalam biota akuatik spesifik perairan darat ini, akan dipilih metode analisis yang berprinsip pada metoda "Cold Vapour-Atomic Absorption spectrophotometer (CV-AAS)". Metoda ini memiliki banyak peluang untuk sukses dilakukan di tahun 2005 ini di lingkungan lab Hidrokimia-P2L, karena peralatan yang diperlukan untuk itu sudah ada.



Gambar 1. Kegiatan pengujian metoda standar dengan menggunakan instrumen Hg analyzer yang dihubungkan dengan Flameless Atomic Absorption Spectrophotometer (Cold Vapour-Atomic Absorption Spectrophotometer, CV-AAS/Spektrofotometer Serapan Atom-SSA).

Kalibrasi instrumen termasuk penyediaan *spareparts* dengan melibatkan vendor terpercaya sama sekali tidak memungkinkan untuk dilaksanakan karena ketersediaan dana yang minim. Akan tetapi menurut Csuros (2002) khusus pada analisis Hg dengan metoda CV-AAS bisa didekati dengan cara penggunaan suatu Standard Reference Material (SRM) yang sesuai atau berkarakteristik mirip dengan jenis matriks sample yang kita periksa. Menurut situs <http://ts.nist.gov/ts/htdocs/230/232/about/definitions.htm>, SRM ini memang disiapkan dan dibuat untuk tiga kegunaan utama:

1. Untuk membantu dalam mengembangkan sebuah metoda analisis yang akurat
2. Untuk mengkalibrasi system pengukuran yang digunakan untuk memfasilitasi pertukaran barang, institusi quality control, mendeterminasi karakteristik kinerja, atau mengukur suatu sifat pada "the state of the art limit"
3. Untuk meyakinkan kecukupan dan integritas jangka panjang pada program jaminan kualitas.

Jadi pemakaian senyawa ini sangat tepat dalam kegiatan penelitian yang dilaksanakan pada tahun 2005 ini.

Studi pustaka dalam proses pencarian "metoda yang applicable" telah dilakukan dengan menggunakan sarana perpustakaan di lingkungan institusional LIPI maupun melalui browsing di internet. Beberapa metoda telah didapatkan, akan tetapi sebagian besar yang diperoleh dari internet adalah metoda analisis yang berbasis pada instrumentasi yang lebih canggih tetapi P2L-LIPI belum memilikinya, seperti cold vapour yang dipadu dengan Grafit Furnace-AAS, atau dengan ICP (Induce Coupled Plasma), dll. Hanya sebagian kecil saja metoda analisis Hg hasil surfing di internet yang berbasis pada CV-AAS. Untunglah beberapa metode analisis yang diperoleh dari buku-buku terbitan internasional seperti ASTM, USEPA, JIS, dll masih ada yang berbasis pada CV-AAS meskipun tidak

satupun dari metoda tersebut dibuat spesifik untuk biota yang hidup di lingkungan perairan darat.

Pada periode Triwulan III, telah dilakukan penyiapan semua glasswares bebas logam beserta consumables yang diperlukan untuk proses analisis logam berat yang dilakukan pada kegiatan tahun ini (Tabel 1 dan 2). Glasswares tersebut diperlakukan secara khusus sehingga diperoleh kondisi seperti yang dipersyaratkan sebagai glasswares bebas logam. Prosedur untuk hal tersebut dideskripsikan sesuai dengan Tabel 3. Juga dilakukan penggantian total rangkaian tubing dalam system Mercury Analyzer, karena rangkaian yang telah ada dikuatirkan telah tidak layak lagi digunakan. Sebelumnya pernah dilakukan analisis mercury yang berkadar tinggi dengan rangkaian yang lama sehingga kemungkinan besar telah terjadi kontaminasi yang sulit diatasi dengan pencucian secara biasa.

Mengenai 5 metode standar, telah dipilih 5 metode analisis Hg dalam biological tissues sebagai nominator metoda yang akan diadopsi dan kemudian akan diuji applicability-nya di lab Hidrokimia P2L-LIP1 (Tabel 4).

Tabel 1. Daftar Glass wares bebas logam yang tersedia di ruangan instrumen AAS.

No	Glass wares	Volume(mL)	Jumlah
1	Botol Reagensia	500	7
2	Botol Reagensia	100	2
3	Labu ukur	500	2
4	Labu ukur	100	5
5	Labu ukur	250	5
6	Erlenmeyer	125	40
7	Pipet volume	1	2
8	Pipet ukur	1	2
9	Pipet ukur	5	2
10	Pipet volume	25	2
11	Bulb karet		2
12	Beaker glass	500	3
13	Beaker glass	100	5
14	Corong glass		5
15	Cover glass		10

Tabel 2. Daftar consumables

No	Consumables	Volume (mL)	Jumlah
1	Batu didih		secukupnya
2	Botol polyethylene	250	30
3	Latex gloves		1 box
4	Sarung tangan karet		2 pasang
5	Forceps erlenmeyer		2 pasang
6	Forceps beaker glass		2 pasang
7	Masker		2 pasang
8	Tissue roll		2 buah
9	Tygon tubing		4 meter

Tabel 3. Prosedur pencucian glassware untuk analisis Hg (Csuros, 2002)

Prosedur
Semua wadah sample, glasswares yang berhubungan dengan sample dicuci terlebih dulu dengan cara sebagai berikut:
1. Sabun yang digunakan harus metal free (Actionox atau equivalent)
2. Cuci wadah sample dan tutupnya serta glasswares dalam air yang mengandung sabun tersebut
3. Bilas dengan air kran sampai busa sabun benar-benar hilang
4. Bilas wadah sample dan glass wares dengan larutan 1+1 HCl, diikuti dengan pembilasan memakai air kran
5. Bilas wadah sample dan glass wares dengan larutan 1+1 HNO ₃ , diikuti dengan pembilasan memakai air kran
6. Bila tiga kali dengan air yang telah dideionisasi (Deionized Water, DW)
7. Keringkan dengan posisi terbalik
8. Pasang tutup wadah sample ke tempatnya, simpan dalam lemari khusus untuk menyimpan peralatan gelas bebas logam
9. Bila dibawa ke lapangan, masukkan dalam kantong plastic agar tak terkotori oleh debu



Gambar 2. Peralatan gelas yang telah diproses agar bebas logam khusus digunakan dalam kegiatan ini.



Gambar 3. Main unit CV-AAS ketika sedang digunakan

Dari kelima nominator tersebut akhirnya diperoleh metode hasil adopsi yang kemudian dicoba untuk diaplikasikan dalam menganalisis Hg dalam SRM 1515 Apple leaves yang diproduksi oleh NIST. Karena mahalnya chemicals yang dibutuhkan dalam proses analisis maka jumlah sample yang dapat dianalisis menjadi sangat terbatas. Diperhitungkan bahwa untuk kegiatan tahun ini hanya terbatas 48 sampel saja termasuk deret standard normal (5 variasi konsentrasi) dilakukan 2 kali sehingga total 10 varian konsentrasi, 6 variasi deret standard untuk metoda addisi standar, 9 Laboratory Reagent Blank, 7 Laboratory Fortified Blank, dan 20 buah pengukuran terhadap Standard Reference Material (SRM) dengan konsentrasi yang tetap.

Tujuan dari dilakukannya seluruh kegiatan tahun 2005 ini *adalah untuk menguji kemampuan alat Cold vapour AAS yang kita miliki dalam menghasilkan data yang benar*. Hal tersebut dapat diketahui dari Standard Deviasi yang diperoleh dari hasil pengukuran. Berikut ini adalah deskripsi prosedur yang diuji coba pada kegiatan 2005 ini (Tabel 5a dan Tabel 5b). Sementara Table 6 adalah analytical

conditions pada instrument yang di "setting" oleh peneliti. Pada saat analytical condition setting, seorang peneliti biasanya memiliki pengalaman tersendiri dalam menentukannya. Tetapi tentu saja tetap berada dalam batasan yang telah ditentukan sesuai manual operation dari si pembuat instrument. Pada prinsipnya tujuannya adalah untuk memperoleh kondisi optimum alat sesuai dengan karakteristik parameter yang tengah diuji. Untuk analisis Hg ini, berdasarkan beberapa literature tampaknya analytical condition seperti pada Tabel 6 adalah yang paling sesuai untuk instrument CV-AAS yang ada di lab. Hidrokimia-P2L.

Tabel 4. Daftar nominator metode analisis Hg yang akan diadopsi

No	Nama metode dan sumber	Komentar dari peneliti MetStand
1	Mercury in plankton, prinsipnya menggunakan metode Cold vapour Fluorescence Spectroscopy. Dibuat oleh Edward A. Nater and Bruce Cook. Dept. of Soil water and Climate 439 Borloug Hill. University of Minnesota St. Paul, MN 5518. October 8, 1996	Bagus diadopsi pada bagian proses preparasi sampelnya saja
2	Seasonal variations of Total mercury in foliar tissues of Posidonia oceanica. Dibuat oleh Anne Copiomont, Luigi Piazzzi, and Gerard pergent. Journal Marine Biology Ass. UK (2000), 80, 1119-1123	Bagus diadopsi material and methodsnya, berhubung yang dianalisis di sini adalah (marine) aquatic macrophyte maka ini akan prospektif digunakan untuk kegiatan tahun 2008.
3	Cold vapour AAS for Solid and semi solids dalam Environmental Sampling and Analysis for metals. Hal 149. Text Book Maria Csuros and Csaba Csuros, Lewis Publishers, 2002.	Bagus untuk dijadikan base methods: Metoda digestion menggunakan water bath Metoda digestion menggunakan autoclave 121 °C 15 lb 15 menit
4	Determination of Mercury in Tissues by Cold vapor Atomic Absorption Spectrometry. Dalam Text book Methods for the Determination of metals in Environmental samples. USEPA. Oleh CK. Smoley. 1992. CRC Press.	Bagus diadopsi dalam menentukan QA/QC
5	Speciation of Mercury in the Environment. Dibuat oleh Hirokatsu Akagi and Hajime Nishimura. Dalam Advances in Mercury Toxicology, edited by T. Suzuki et al. Plenum Press, New york, 1991	Bagus dijadikan salah satu referensi dalam hal digestion process.

Dalam sebuah metoda standard, Quality Control, mutlak dilakukan. Langkah ini terdiri atas analisis analit logam Hg dalam berturut-turut: Laboratory Reagent Blank (LRB), Laboratory Fortified Blank (LFB), dan Certified Reference Material (CRM). Dalam kegiatan penelitian th 2005 ini CRM yang digunakan adalah produk NIST yang bermerek dagang SRM 1515.

Menurut Smoley (1992), Csuros and Csuros (2002) performance instrument juga dapat diuji melalui nilai Minimum Detection Limit (MDL) nya. Caranya adalah dengan melakukan tujuh kali pengukuran terhadap LFB. Dalam hal ini, LFB adalah sejumlah DW yang telah ditambahi sejumlah tertentu analit Hg dan diperlakukan sama seperti sample selama proses analisis. Kemudian hasil pengukuran yang diperoleh akan diproses dengan rumus sbb:

MDL = 3.14 x standard deviasi dari replikasi pengukuran

LRB adalah Demineralized water yang diperlakukan sama persis seperti sample selama proses analisis berlangsung. LRB biasanya digunakan untuk mendeteksi adanya kontaminasi dari lingkungan laboratorium. Selain itu juga merupakan upaya karakterisasi spectral background dari reagen yang dipakai di laboratorium. Bila nilai analit Hg dalam LRB ternyata melebihi nilai MDL maka dicurigai telah terjadi kontaminasi Hg dalam proses analisis (Smoley, 1992; Csuros and Csuros, 2002)

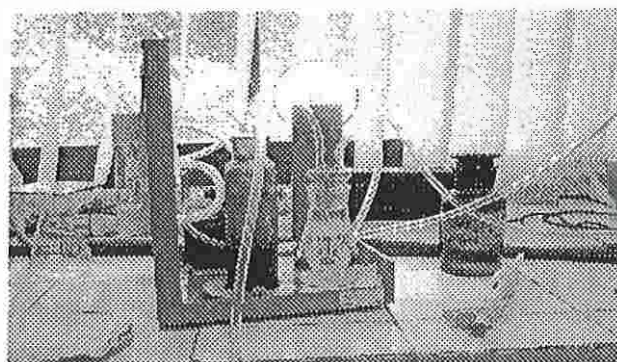
Reagensia yang dibutuhkan adalah sbb:

1. HNO_3 pekat
2. H_2SO_4 pekat
3. KMnO_4 5%
4. Larutan Hydroxilamin Chloride 10 %
5. Larutan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 5 %
6. Larutan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 %
7. Intermediate 10 $\mu\text{g Hg/mL}$
8. Larutan deret standard ($\mu\text{g Hg}$) : 0.000; 0.05; 0.200; 0.500; 1.000

Penyiapan standard dengan metoda addisi adalah sbb (adopsi dari Hitachi, 1987):

1. Standard 1: berisi 5 mL larutan standard Hg 0.2 mg/L ditambah DW sebanyak 45 mL
2. Larutan Matrix : berisi larutan SRM (0.44 $\mu\text{g/g}$ dilarutkan dalam 100 mL DW) ditambah 40 mL DW
3. Standard 2 berisi : larutan SRM 10 mL, standard Hg 0.2 mg/L juga 10 mL dan DW 25 mL
4. Standard 3 berisi: larutan SRM 10 mL, 15 mL larutan standar 0.2 mg/L dan DW 20 mL
5. Standard 4 berisi : larutan SRM 10 mL, 25 mL larutan standar 0.2 mg/L dan DW 15 mL
6. Standard 5 berisi : larutan SRM 10 mL, 35 mL larutan standar 0.2 mg/L dan DW 10 mL
7. Standard 6 berisi: larutan SRM 10 mL, 35 mL larutan standar 0.2 mg/L dan DW 5 mL
8. Standard 7 berisi : larutan SRM 10 mL, 37 mL larutan standar 0.2 mg/L dan DW 3 mL

Dari pengukuran kadar air dalam SRM 1515 diperoleh hasil rata-rata sebesar 1,85 % kadar air dan 98,15 % berat kering . Data ini diperlukan untuk menentukan kandungan Hg dalam dry weight basis.



Gambar 4. Hg analyzer CV-AAS ketika sedang digunakan bila dari jarak dekat

Tabel 5a. Prosedur analisis laboratorium Hg dalam plankton dengan metoda Cold Vapour-AAS (CV-AAS, Hg Analyzer Accessory 180-0450 dihubungkan dg Hitachi Z-6100)

1) Disiapkan larutan deret standard (5 erlenmeyer), LRB (3 erlenmeyer), LFB (7 erlenmeyer), SRM (20 erlenmeyer)	9. Nyalakan CV-AAS sesuai manualnya, dan biarkan pompa bersirkulasi dg laju aliran 1 L/menit sampai stabil
2) Tambahkan 4 mL H_2SO_4 pekat dan 1 mL HNO_3 pekat	10. Program Analytical Condition sesuai petunjuk dalam manual operation
3) Panaskan pada Hot plate dengan suhu $58^\circ C$ sampai tissue nya hilang (30-60 menit)	11. Hentikan pompa. Arahkan Valve pada posisi CIRCULATE
4) Dinginkan	12. A* diencerkan menjadi 50 mL, tuangkan pada labu ukur (250 mL) dan tepatkan dg DW sampai batas tanda
5) Tambahkan 5 mL larutan $KMnO_4$ 5% (1 mL demi 1 mL)	13. Tuangkan pada reaction vessel 250 mL
6) Tambahkan 10 mL larutan $KMnO_4$ 5% (1 mL demi 1 mL)	14. Tambahkan 10 mL larutan $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ 10%, sesegera mungkin hubungkan dg nozzle. Keok sebaiknya ± 2 menit
7) Tambahkan 8 mL larutan $K_2S_2O_8$ 5%	15. Arahkan valve pompa pd posisi START, tunggu sampai diperoleh signal tertinggi yang stabil pada Signal Monitor (± 30 detik)
8) Biarkan semalaman (diperoleh A*)	16. Tekan tombol START/STOP
Catatan:	17. Setelah diperoleh level absorption tertinggi, arahkan valve ke posisi OPEN
LRB: laboratory reagent blank	18. Setelah level absorption menurun, matikan pompa
LFB: laboratory fortified blank	19. Ganti reaction vessel berikutnya yang akan diukur
SRM: Standard Reference Material	20. Ulangi langkah 14 sampai 19 sampai semua sampel terukur
DW: Demineralized Water	

Tabel 5b. Lanjutan prosedur analisis laboratorium Hg dalam plankton dengan metoda Cold Vapour-AAS (CV-AAS, Hg Analyzer Accessory 180-0450 dihubungkan dg Hitachi Z-6100)

21. Identifikasi konsentrasi Hg dalam sampel dengan menggunakan kurva standar yang telah diperoleh dari pengukuran deret standard

22. Hitung konsentrasi Hg dalam sampel dengan rumus

$$\mu\text{g Hg/g} = \frac{\mu\text{g Hg dalam aliquot}}{\text{bobot kering (g)}}$$

- Bila interior Hg gas cell kotor, cuci sebanyak 5 kali bilasan dengan DW dan 2 kali bilasan dengan alkohol. Sambung ke system pada suction side untuk proses pengeringan

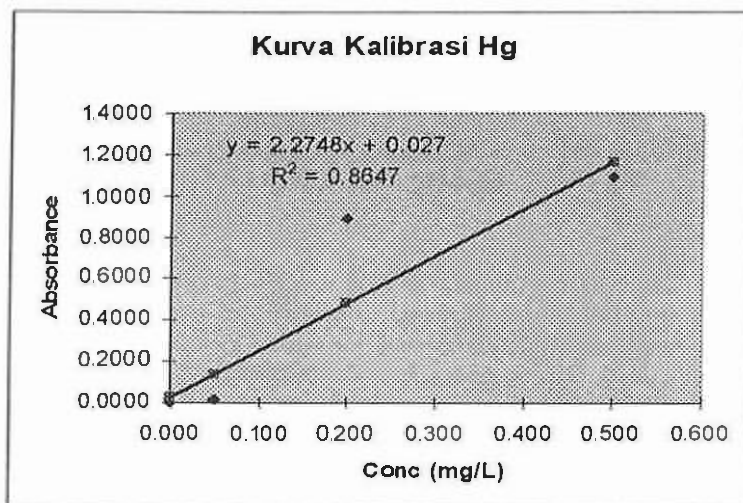
- Bila keseluruhan sistem telah terkontaminasi Hg, lakukan langkah pembersihan sebagai berikut:

- Isi reaction vessel dengan 250 mL larutan $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (1+20). Arahkan valve pompa pada posisi CIRCULATE. Operasikan selama ± 5 menit. Arahkan posisi valve pada OPEN, operasikan pompa selama 30 menit.

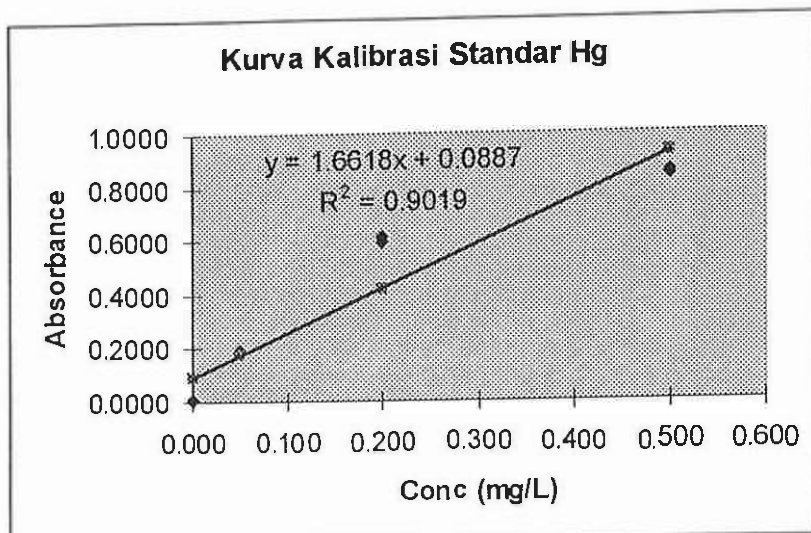
Tabel 6. Analytical Condition yang digunakan untuk analisis Hg dalam plankton dengan metoda Cold Vapour –AAS (CV-AAS, Hg Analyzer Accessory 180-0450 dihubungkan dg Hitachi Z-6100)

1) Lamp current	: 6.0mA
2) Wave length	: 253.7 nm
3) Slit	: 1.3 nm
4) Atomizer	: Quartz cell
5) Flame	: None
6) Fuel Pressure	: 0 kPa
7) Burner height	: 15 mm
8) Measurement mode	: Abs (conc)
9) Signal Mode	: sample
10) Calculation	: P/H
11) Calculation time	: 20 sec
12) Delay time	: 30 sec
13) Statistics	: mean, sd, rsd
14) Unit	: mg/L
15) Standard	:
1) Standard 1	: 0.000
2) Standard 2	: 0.050
3) Standard 3	: 0.200
4) Standard 4	: 0.500
5) Standard 5	: 1.000

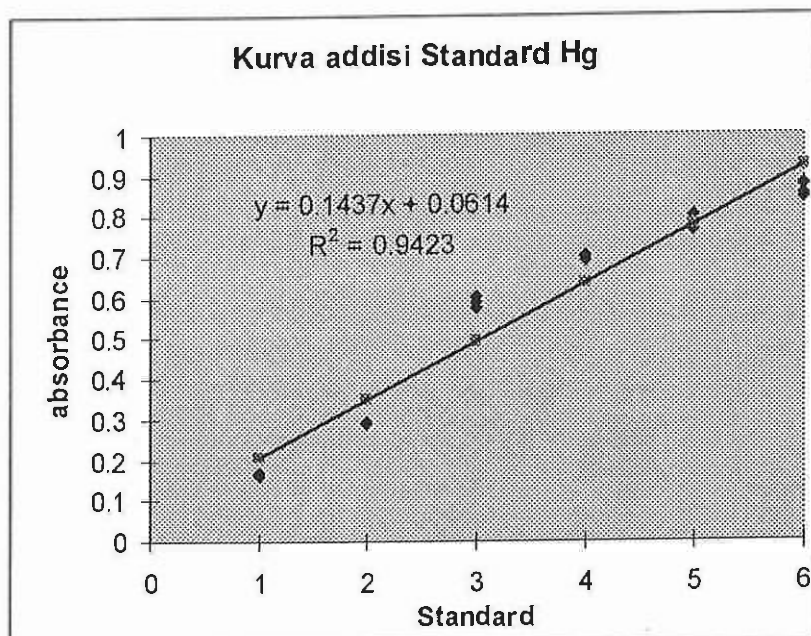
Hasil Uji Kemampuan Response Hg Analyzer-Flameless Atomic Absorption Spectrophotometer.



Gambar 5. Kurva kalibrasi standar Hg dalam system kalkulasi integration



Gambar 6. Kurva kalibrasi Standar Hg dala system kalkulasi Peak /Height



Gambar 7. Kurva kalibrasi dengan Metoda *addisi Standard*

Dalam hal kurva kalibrasi standar rupanya kurva adisi standar adalah yang paling bagus bila dilihat dari besarnya nilai r^2 , sedangkan kurva kalibrasi standar yang berbasis kalkulasi P/H lebih bagus digunakan bila dibandingkan dengan kalkulasi berbasis integrasi.

Table 7. Statistik deskriptif pengukuran analit Hg dalam LRB dengan berbasis pada kalkulasi integration.

LRB	abs	conc.(mg/L)	LRB conc.(mg/L)	
	0.261	0.103	Mean	0.111
	0.269	0.106	Standard Error	0.003
	0.276	0.109	Median	0.111
	0.285	0.113	Mode	#N/A
	0.293	0.117	Standard Deviation	0.006
	0.298	0.119	Sample Variance	0.000
			Kurtosis	-1.525
			Skewness	-0.072
			Range	0.017
			Minimum	0.103
			Maximum	0.119
			Sum	0.668
			Count	6.000
			Confidence Level(95.0%)	0.007

Table 8. Statistik deskriptif hasil pengukuran analit Hg dalam LRB berbasis kalkulasi P/H

LRB	abs	conc.(mg/L)	LRB conc.(mg/L)	
	0.261	0.104	Mean	0.115
	0.269	0.108	Standard Error	0.004
	0.276	0.113	Median	0.115
	0.285	0.118	Mode	#N/A
	0.293	0.123	Standard Deviation	0.009
	0.298	0.126	Sample Variance	0.000
			Kurtosis	-1.525
			Skewness	-0.072
			Range	0.023
			Minimum	0.104
			Maximum	0.126
			Sum	0.692
			Count	6.000
			Confidence Level(95.0%)	0.009

Hasil dari Tabel 7 & 8 ini menunjukkan bahwa terjadi kontaminasi Hg dalam pengukuran terhadap LRB. Dicurigai adanya kontaminasi Hg, mungkin dalam DW maupun dalam reagensia yang digunakan (kontaminasi spectral dari reagensianya). Harus dilakukan pengulangan pengukuran LRB.

Table 9. Data hasil pengulangan terhadap pengukuran LRB, memastikan bahwa analit Hg dalam DW sudah berhasil diminimalkan.

LFB	abs	conc(mg/L)	Deteksi P/H	abs	conc(mg/L)	Deteksi integrasi
	0026	-0038	nilai LRB dibawah limit			nilai LRB dibawah limit
	0024	-0039	deteksi alat			deteksi alat
	0037	-0031	(0.050mg/L)			(0.050mg/L)
	0020	-0041		0026	-00005	
	0016	-0044		0024	-00014	
	0017	-0043		0037	00045	
	0019	-0042		0020	-00030	
	0012	-0046		0016	-00047	
	0011	-0047		0017	-00046	
	0020	-0041		0019	-00033	
	0029	-0036		0012	-00066	
	0037	-0031		0011	-00072	
				0020	-00029	
				0029	00010	
				0037	00043	

Tabel 9 menunjukkan bahwa pada pengulangan pengukuran analit Hg dalam LRB semuanya baik pada kalkulasi integrasi maupun P/H berada pada konsentrasi di bawah limit deteksi alat (0,05 mg Hg/L). Ini berarti bahwa DW maupun reagensia yang kita gunakan dalam tahap ini tidak terkontaminasi oleh Hg. Hal ini juga didukung dengan hasil pengukuran terhadap LFB (Tabel 10a dan 10 b).

Tabel 10a. Hasil pengukuran LFB baik dengan basis kalkulasi integrasi maupun P/H

average	LFB	P/H	integ
Code	abs	conc(mg/L)	conc (mg/L)
1	0.850	0.458	0.222
2	0.815	0.437	0.209
3	0.783	0.418	0.198
4	0.757	0.402	0.189
5	0.735	0.389	0.181
6	0.716	0.377	0.174
7	0.701	0.369	0.168

Table 10 b. Hasil statistic deskriptif pengukuran LFB baik dengan basis kalkulasi integrasi maupun P/H

<i>P/Hcalc.LFBconc(mg/L)</i>		<i>integcalc. conc(mg/L)</i>	
Mean	0.407	Mean	0.163
Standard Error	0.012	Standard Error	0.024
Median	0.402	Median	0.181
Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.033	Standard Deviation	0.064
Sample Variance	0.001	Sample Variance	0.004
Kurtosis	-0.902	Kurtosis	5.966
Skewness	0.482	Skewness	-2.378
Range	0.090	Range	0.187
Minimum	0.369	Minimum	0.022
Maximum	0.458	Maximum	0.209
Sum	2.850	Sum	1.141
Count	7.000	Count	7.000
Confidence Level(95.0%)	0.030	Confidence Level(95.0%)	0.059
MDL= 314xstd dev	MDL	MDL	0.200

Bila LRB>MDL

berarti ada kontaminasi

dari hasil analisis ternyata LRB MDL
<0.050 mg/L 0.102

tidak ada kontaminasi

tdk ada spektral background dari reagen

dari hasil analisis

LRB<MDL

jadi tak ada kontaminasi

LRB MDL

0.115 0.200

Tabel. 11. Nilai Standar Deviasi pembacaan CV-AAS terhadap analit Hg dengan kalkulasi P/H

Kode Spl	bobot basah	bobot kering	conc. Hg	Std dev. pengukuran
SRM	(gr)	(gr)	(µg/g bobot kering)	triplicate
1	0.1055	0.1035	0.425	0.009
2	0.1016	0.0997	0.441	0.009
3	0.0998	0.0980	0.449	0.002
4	0.1057	0.1037	0.424	0.006
5	0.1510	0.1482	0.297	0.003
6	0.1150	0.1129	0.390	0.004
7	0.1147	0.1126	0.391	0.003
8	0.1404	0.1378	0.319	0.004
9	0.1147	0.1126	0.391	0.001
10	0.1065	0.1045	0.421	0.003
11	0.1015	0.0996	0.442	0.001
12	0.0997	0.0979	0.450	0.003
13	0.1009	0.0990	0.444	0.001
14	0.1144	0.1123	0.392	0.003
15	0.1070	0.1050	0.419	0.002
16	0.1024	0.1005	0.438	0.002
17	0.1219	0.1196	0.368	0.001
18	0.1115	0.1094	0.402	0.001
19	0.1045	0.1026	0.429	0.002
20	0.1102	0.1082	0.407	0.002

KESIMPULAN :

Jadi dapat dikatakan bahwa response instrument CV-AAS di lingkungan Hidrokimia Puslit Limnologi terhadap analit Hg dengan menggunakan metoda hasil adopsi sangat bagus (dilihat dari segi *reproducibility* hasil pembacaan oleh alat), hal ini terbukti dengan kecilnya nilai standard deviasi dari hasil pengukuran terhadap analit Hg dalam SRM 1515 (Tabel 11). Tetapi sayangnya dalam hal *accuracy* pembacaan oleh alat belum diadakan pengujian karena terbatasnya SRM 1515 yang tersedia.

Hasil pengukuran *absorbance* dengan metoda ini baik dengan sistem kalkulasi integrasi maupun dengan kalkulasi P/H tidak memberikan hasil yang berbeda. Akan tetapi dari segi linearitas dari kurva kalibrasi standard, kalkulasi P/H lebih baik dibandingkan kalkulasi integrasi. Pembuatan kurva kalibrasi metoda *addisi* standar meskipun merepotkan dalam proses pengerjaanya, namun merupakan kurva kalibrasi terbaik dibandingkan dengan kurva kalibrasi yang lainnya untuk analisis analit Hg ini.

Saran untuk kegiatan tahun 2006:

1. Perlu diperbanyak jumlah SRM 1515 atau CRM lainnya yang ekuivalen agar dapat dilakukan pengujian kemampuan alat dalam menghasilkan data yang mendekati nilai sebenarnya dari analit logam dalam matriks sampel (*accuracy* pembacaan oleh alat CV-AAS).
2. Dilakukan perbandingan hasil analisis bila preparasi dilakukan dengan metode digestion menggunakan autoclave dan hot plate
3. Dibandingkan pula hasil analisis yang diperoleh bila berbasis kurva kalibrasi normal dan kurva kalibrasi *addisi* standard
4. Membandingkan hasil yang diperoleh bila kalkulasi instrumen berbasis integration dan P/H
5. Implementasi prosedur sampling ke lapangan
6. Implementasi metoda analisis Hg dalam sample plankton yang berasal dari perairan sekitar Cibinong, Serpong dan Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- CK. Smoley.1992. Determination of Mercury in Tissues by Cold vapor Atomic Absorption Spectrometry. Dalam Text book Methods for the Determination of metals in Environmental samples. USEPA. CRC Press.
- Copiomont,, A; Piazzzi,L and Pergent, G. 2000. Seasonal variations of Total mercury in foliar tissues of *Posidonia oceanica*. Journal Marine Biology Ass.UK (2000), 80, 1119-1123
- Csuros, M. and Csuros, C. 2002 Cold vapour AAS for Solid and semi solids dalam Environmental Sampling and Analysis for metals. Hal 149., Lewis Publishers. 372 pp
- Hirokatsu Akagi and Hajime Nishimura. 1991. Speciation of Mercury in the Environment. Dalam Advances in Mercury Toxicology, edited by T. Suzuki et al. Plenum Press, New york, 1991
- Hitachi. 1987. Analysis Guide for Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometry. Instruction Manual for 180-0450 Mercury Analyzer Accessory. Part No. 171-9107-3. KM-R (MT-NK 22111)

- Nater, E A and Cook., B. 1996. *Mercury in plankton*. Dept. of Soil water and Climate 439 Borloug Hill. University of Minnesota St. Paul, MN 5518. October 8, 1996
- Wetzel, R.G.2001. *Limnology*. 3th Ed. W.B. Saunders College Company Publishing. Philadelphia. London.743 p