

VALIDASI METODE NYALA SPEKTROMETRI SERAPAN ATOM (SAA) MENGGUNAKAN BAHAN STANDAR PEMBANDING

Supriyanto C. dan Samin

P3TM – BATAN

ABSTRAK

VALIDASI METODE NYALA SPEKTROMETRI SERAPAN ATOM MENGGUNAKAN BAHAN STANDAR PEMBANDING. Telah dilakukan validasi alat uji dan metode uji spektrometri serapan atom (SAA) menggunakan bahan standar pembanding (standard reference materials, SRM). Validasi alat uji dilakukan dengan menentukan harga presisi dan kepekaan SAA menggunakan larutan spektrosol Cu 5 ppm, sedangkan validasi metode uji dilakukan dengan analisis logam-logam berat Fe, Cu, Cr, dan Zn dalam contoh uji SRM Bovine Liver, Soil 7, dan Citrous Leaves. Contoh uji dengan berat tertentu dimasukkan dalam teflon berbentuk tabung kemudian ditambahkan 1 - 2 ml asam nitrat pekat. Tabung ditutup rapat dimasukkan dalam tabung terbuat dari stainless steel, kemudian dipanaskan dalam tungku pemanas pada suhu 150 °C selama 4 jam. Alat uji SAA masih layak digunakan sebagai alat uji, dengan perolehan harga presisi dan kepekaan masing-masing 0,024 ppm dan 0,74 % masih berada di bawah syarat acuan ASTM. Validitas metode uji ditunjukkan dengan perolehan kadar unsur Fe, Cr, Cu, dan Zn dalam contoh uji SRM berada dalam rentang konsentrasi yang ada dalam sertifikat SRM dengan harga presisi dan akurasi di bawah 5 %.

ABSTRACT

THE VALIDATION OF FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY METHOD USING STANDARD REFERENCE MATERIALS. The validation of instrument and analytical method of atomic absorption spectrometry (AAS) using standard reference materials (SRM) have been carried out. The validation of instrument was done by measurement of precision and sensitivity using spectrosol solution of Cu 5 ppm, whereas the validation of analytical method was done by analysis of heavy metals such as Fe, Cr, Cu, and Zn elements in SRM samples consist of SRM Bovine Liver, Citrous Leaves, and Soil 7. The SRM samples in a teflon tube and adding 1 - 2 ml nitric acid solution. The tightly covered teflon tube was put it into stainless steel tube and then of was heated at 150 °C during 4 hours. The validity of instrument AAS still valid with precision and sensitively were obtained 0,024 ppm and 0,74 % respectively, less than ASTM reference. The Validation of analytical method showed that with obtained of the content of Fe, Cr, Cu, and Zn elements in the content of certificate legend, with precision and acuration were under 5 %.

PENDAHULUAN

Dalam kegiatan proses kimia, produksi, penelitian dasar, penelitian terapan atau penelitian lainnya, analisis kimia merupakan pendukung utama yang sangat dibutuhkan untuk mengetahui apakah rangkaian kegiatan yang sudah dilakukan benar-benar sesuai dengan rancangan atau tidak. Kesalahan dalam analisis kimia akan berakibat fatal, karena kesalahan analisis kimia akan menimbulkan kesalahan dalam pembahasan, perhitungan, penentuan diagnose dan sebagainya. Keberhasilan dalam analisis kimia ditunjukkan dari keabsahan data hasil uji. Berdasarkan SNI-19-17025-2000 data hasil uji dikatakan absah apabila data uji tersebut mempunyai presisi dan akurasi yang baik dan mampu telusur (1,2).

Laboratorium Kimia Analitik P3TM BATAN, merupakan laboratorium pengujian yang sudah terakreditasi oleh Komite Akreditasi Nasional (KAN), sehingga tujuan utama yang harus dicapai oleh Laboratorium Kimia Analitik P3TM adalah dihasilkannya data hasil uji yang absah (valid). Salah satu alat uji yang mendukung laboratorium pengujian P3TM BATAN adalah alat uji spektrometri serapan atom (SSA) dengan metoda nyala. Ruang lingkup akreditasi pada metoda nyala SSA meliputi contoh uji biologis dan lingkungan.

Untuk memperoleh keabsahan data hasil uji dengan metoda nyala SSA, beberapa parameter yang perlu mendapatkan perhatian adalah validasi alat uji, dan validasi metode uji. Validasi alat uji ditentukan dari harga kepekaan

dan presisi yang diperoleh dari pengukuran serapan larutan standar Cu 5 ppm. Sedangkan validasi metode uji nyala SSA dilakukan dengan menentukan beberapa parameter seperti presisi, akurasi, kepekaan, batas deteksi dan selektifitas. Harga presisi ditentukan dari estimasi kandungan analit sesungguhnya dalam suatu contoh uji berdasarkan harga rerata pada sejumlah ulangan pengujian yang dilakukan. Harga akurasi ditentukan dari besarnya penyimpangan data hasil uji dengan harga sesungguhnya. Harga kepekaan suatu metode uji dinyatakan sebagai rasio kenaikan respon pengujian untuk setiap kenaikan konsentrasi komponen. Pada pengujian instrumental dengan teknik kuantitas standar eksternal, kepekaan metoda dapat dinyatakan dengan harga slope kurva baku. Makin besar harga slope kurva baku yang dapat dihasilkan oleh suatu metoda, makin tinggi kepekaan metoda tersebut. Batas deteksi dari suatu metoda ditentukan dari besaran yang menyatakan konsentrasi terkecil analit yang dapat memberikan respon yang secara signifikan dapat dibedakan dari variabilitas pengukuran blanko(3).

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi larutan standar Fe, Cu, Cr, dan Zn konsentrasi 1000 ppm buatan BDH, contoh uji *Standard reference materials (SRM) Bovine Liver*, dan *citrous leaves* buatan NBS USA, dan *SRM Soil 7* buatan IAEA, HNO₃ pekat buatan Merck, akuatrides buatan lab. P3TM BATAN.

Tata kerja

Pada penelitian ini digunakan seperangkat alat spektrometer serapan atom tipe AA-300-P buatan Varian Techtron, Australia, teflon bomb digester, tungku pemanas buatan Heraeus, Jerman, mikro pipet ukuran 10 - 100 µl, dan 100 - 1000 µl, kompor listrik, beker dari teflon ukuran 50 ml, dan peralatan dari gelas (labu, beker, dan pipet).

Pelarutan contoh uji SRM Bovine Liver, Citrous leaves, dan soil 7

Masing-masing SRM dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C selama 4 jam menggunakan wadah gelas beker 10 ml. Hasil pengeringan setelah dingin ditimbang masing-masing 0,2 g dalam tabung teflon. Ditambahkan 2 ml asam nitrat pekat dan 0,2 ml asam perklorat pekat, dimasukkan ke dalam tabung

teflon dalam tabung terbuat dari besi, kemudian ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam tungku pemanas, dipanaskan pada suhu 150 °C selama 4 jam. Hasil pelarutan setelah dingin dituang ke dalam gelas beker terbuat dari teflon, dipanaskan di atas pemanas pasir dengan penambahan akuatrides berulang-ulang sampai diperoleh larutan yang jernih. Hasil pelarutan setelah dingin ditepatkan dalam labu takar ukuran 10 ml dengan penambahan akuatrides sampai batas tanda.

Optimasi kondisi analisis unsur Fe, Cu, Cr, dan Zn

Kondisi optimum analisis unsur Fe, Cu, Cr, dan Zn diperoleh dengan mengukur serapan yang maksimum dari larutan standar Fe, Cu, Cr, dan Zn pada konsentrasi Fe, Cu dan Zn masing-masing 5 ppm dan Cr 10 ppm. Pengukuran serapan yang maksimum dilakukan pada panjang gelombang maksimum masing-masing unsur, pada setiap perubahan arus lampu, lebar celah, laju alir asetilen, laju alir contoh uji dan tinggi pembakar.

Kepekaan dan presisi alat uji

Dibuat 25 ml larutan campuran yang terdiri dari Cu 100 ppm, HNO₃ 1 N, dan akuatrides sedemikian rupa sehingga konsentrasi Cu dalam larutan 5 ppm, dan konsentrasi HNO₃ 0,1 N. Kepekaan alat uji ditentukan dengan mengukur serapan larutan tersebut sebanyak 3 kali pengukuran, sedangkan presisi ditentukan dengan mengukur serapan larutan tersebut sebanyak 6 kali pengukuran pada kondisi optimum analisis Cu.

Analisis kadar Fe, Cu, Cr, dan Zn dalam contoh uji

Dibuat 5 buah larutan campuran yang terdiri dari Fe 100 ppm, Cu 100 ppm, Cr 100 ppm dan Zn 10 ppm, HNO₃ 1 N dan akuatrides sedemikian rupa sehingga konsentrasi HNO₃ dalam masing-masing larutan campuran tetap 0,1 N, sedangkan konsentrasi Fe, Cu, Cr, dan Zn dalam masing-masing larutan campuran bervariasi, Fe 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ppm; Cu dan Zn 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 ppm; Cr 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 ppm. Masing-masing larutan campuran diukur serapannya pada kondisi analisis yang optimum dari masing-masing unsur. Kadar unsur Fe, Cu, Cr dan Zn ditentukan dengan cara menginterpolasikan serapan contoh uji pada kurva standar campuran, konsentrasi yang diperoleh dihitung kembali dengan faktor

berat contoh uji, faktor pengenceran dan volume pelarutan. Evaluasi kadar unsur Fe, Cu, Cr dan Zn yang diperoleh digunakan untuk validasi metode nyala spektrometri serapan atom.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Permasalahan yang selalu muncul pada penentuan unsur logam dalam contoh uji padatan dengan metoda nyala spektrometri serapan atom adalah preparasi contoh uji sampai diperoleh contoh uji dalam bentuk larutan. Permasalahan tersebut seperti kemungkinan kontaminasi yang terjadi, apalagi bila unsur yang ditentukan dalam katagori *trace element*, hasil pelarutan yang kurang sempurna sehingga dapat menyebabkan bias pada data hasil uji yang diperoleh. Demikian juga kadar unsur Fe, Cu, Cr dan Zn dalam SRM *Bovine Liver*, *Citrous Leaves* dan *Soil 7* masuk dalam kategori unsur kelumit sehingga semua perlakuan terhadap contoh uji diperlakukan secara *trace element*. Perlakuan secara *trace element* terhadap contoh uji antara lain meliputi persiapan wadah, pencucian peralatan, teknik pelarutan, dan teknik penyimpanan bila analisis belum siap dilakukan. Sebelum digunakan, wadah direndam dalam asam nitrat (1 : 3) selama satu malam, kemudian dibilas dengan akuatrides 3 - 4 kali sampai diperoleh pH air bekas cucian netral. Dikeringkan dalam oven pada suhu 50 - 60 °C, setelah kering dimasukkan ke dalam kantong-kantong plastik dan disimpan dalam almari di ruang bebas debu.

Pada pelarutan menggunakan teknik teflon bomb digester, contoh uji dengan berat tertentu dimasukkan dalam teflon berbentuk tabung kemudian ditambahkan pelarut asam nitrat pekat ditutup rapat dan dimasukkan dalam tabung terbuat dari besi dipanaskan dalam tungku pemanas pada suhu 180 °C selama 4 jam. Pelarutan dengan sistim tertutup, menyebabkan efisiensi asam nitrat sebagai pelarut menjadi maksimal karena asam nitrat yang hilang relatif sedikit dan proses dekomposisi akan lebih sempurna. Disamping itu dapat menekan terjadinya kontaminasi yang dapat terjadi yang diakibatkan penggunaan pelarut asam. Dibandingkan dengan pemanasan secara terbuka yaitu pelarutan menggunakan kompor listrik atau pemanas yang lain penggunaan teflon bomb digester lebih murah, lebih aman dan relatif lebih cepat.

Parameter yang lain yang berpengaruh dan perlu mendapatkan perhatian agar diperoleh data hasil uji yang mempunyai validitas sesuai persyaratan, yaitu parameter alat uji, dan metoda

uji yang digunakan. Persyaratan alat uji ditunjukkan dengan hasil verifikasi terhadap alat uji, berupa kepekaan dan presisi alat uji. Harga kepekaan dan presisi yang diperoleh dibandingkan dengan acuan yang menurut ASTM (4) mensyaratkan kepekaan 0,040 ppm dan presisi 1 %, seperti ditunjukkan pada Tabel 1 sebagai berikut :

Tabel 1. Verifikasi alat uji SSA metode nyala

No	Parameter	Cu 5 ppm	ASTM (4)
1.	Kepekaan (ppm)	0,024	0,040
2.	Presisi (%)	0,74	1,0

Kepekaan alat uji SSA diperoleh dengan mengukur larutan standar Cu 5 ppm sebanyak 3 kali pengukuran. Hasil rerata pengukuran digunakan untuk menghitung kepekaan dengan formula $S = 0,0044 (C_1 / A_1)$, dengan C_1 adalah konsentrasi Cu 5 ppm, A_1 adalah nilai rata-rata serapan Cu 5 ppm. Presisi alat uji SSA dilakukan dengan cara kerja yang sama seperti pada penentuan kepekaan dengan pengukuran serapan sebanyak 6 kali pengukuran, kemudian presisi dihitung dengan formula $s = (A-B) \times 0,40$ dengan A adalah nilai serapan tertinggi, dan B adalah serapan terendah. Berdasarkan perhitungan harga kepekaan dan presisi yang disajikan dalam Tabel 1, dapat dikatakan bahwa alat uji SSA masih layak digunakan sebagai alat uji dengan perolehan kepekaan dan presisi yang masih berada dibawah batas yang dipersyaratkan.

Validasi metoda uji merupakan salah satu parameter yang perlu diperhatikan untuk memperoleh validitas data hasil uji. Metoda uji mempunyai atribut-atribut tertentu yang meliputi presisi, akurasi, batas deteksi, sensitifitas, dan selektifitas yang harus dipertimbangkan ketika akan menggunakan suatu metoda uji. Pada awalnya validasi metoda uji digambarkan sebagai proses dimana atribut-atribut metoda uji tersebut ditentukan dan dievaluasi. Dalam perkembangannya validasi metoda uji diartikan menjadi lebih luas yaitu konfirmasi bahwa suatu metoda uji memenuhi persyaratan yang ditentukan dengan cara menguji metoda dan melengkapi bukti-bukti yang obyektif. Untuk memperoleh harga-harga presisi, akurasi batas deteksi dan yang lainnya, pada penelitian ini digunakan *Standard Reference Materials* (SRM) yaitu SRM *Bovine Liver*, *Citrous Leaves* dan *Soil 7*, sedangkan unsur yang ditentukan adalah unsur logam berat Fe, Cu, Cr dan Zn.

Kadar Fe, Cu, Cr dan Zn dalam masing-masing SRM ditentukan dengan teknik pengukuran kalibrasi standar yaitu dengan mengukur serapan contoh uji, kemudian serapan yang diperoleh diinterpolasikan pada masing-masing kurva standar sehingga akan diperoleh konsentrasi regresi Fe, Cu, Cr dan Zn. Kadar unsur Fe, Cu, Cr dan Zn dalam SRM ditentukan dengan menghitung konsentrasi regresi unsur yang diperoleh dikalikan dengan faktor pengenceran, volume pelarutan dan berat penimbangan, seperti disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 disajikan data hasil uji unsur Fe, Cu, Cr dan Zn dalam contoh uji SRM *Bovine Liver*, *Citrous Leaves* dan *Soil 7*. Berdasarkan pada Tabel 2 kadar unsur Cr pada SRM *Bovine*

Liver dan *Citrous Leaves* dan kadar unsur Cu pada SRM *Soil 7* masing-masing sangat rendah, sehingga metoda nyala SSA tidak mampu untuk mendeteksi. Dengan demikian analisis unsur Cr pada SRM *Bovine Liver* dan *Citrous Leaves* dan analisis unsur Cu pada SRM *Soil 7* tidak dapat digunakan untuk validasi metode nyala SSA. Berdasarkan Tabel 2 diperoleh kadar Fe, Cu, dan Zn dalam SRM *Bovine Liver* dan *Citrous Leaves* dan analisis unsur Fe, Cr, dan Zn pada SRM *Soil 7* yang berada dalam rentang kadar yang ada dalam sertifikat, dengan demikian dapat dikatakan bahwa metoda uji yang digunakan mempunyai validitas sesuai persyaratan.

Tabel 2. Kadar Fe, Cu, Cr dan Zn dalam SRM *Bovine Liver*, *Soil 7*, dan *Citrous Leaves*

No.	SRM	Unsur	Sertifikat (ppm) (5,6,7)	Hasil analisis (ppm)
1	<i>Bovine Liver</i>	Fe	184 ± 15	182,3 ± 7,2
		Cu	160 ± 8	160,1 ± 4,2
		Cr	-	-
		Zn	127 ± 16	125,4 ± 4,2
2.	<i>Soil 7</i>	Fe	25,2 - 26,3 ^(*)	24,5 ± 0,6 ^(*)
		Cu	9 - 13	-
		Cr	60 (49 - 74)	61,4 ± 1,2
		Zn	101 - 113	104,8 ± 2,7
3.	<i>Citrous Leaves</i>	Fe	90 ± 10	92,4 ± 2,2
		Cu	16,5 ± 1,0	16,4 ± 0,8
		Cr	0,8 ± 0,2	-
		Zn	29 ± 2	30,1 ± 1,2

^{*)}Satuan dalam mg/mL

Tabel 3. Data hasil validasi metoda uji unsur Fe, Cu, Cr, dan Zn

No.	SRM	Unsur	Akurasi (%)	Presisi (%)	Batas deteksi (ppm)
1.	<i>Bovine Liver</i>	Fe	0,92	3,90	0,04
		Cu	0,06	2,62	0,05
		Cr	-	-	0,02
		Zn	1,26	3,34	0,01
2.	<i>Soil 7</i>	Fe	2,78	2,45	
		Cu	-	-	
		Cr	2,0	1,95	
		Zn	3,76	2,58	
3.	<i>Citrous Leaves</i>	Fe	2,67	2,38	
		Cu	0,61	4,88	
		Cr	-	-	
		Zn	3,79	3,98	

Persyaratan yang lain yang harus dipenuhi pada validasi metoda adalah harga akurasi, presisi, dan batas deteksi yang diperoleh apabila metoda uji tersebut diterapkan pada SRM. Hasil analisis unsur dalam SRM *Bovine Liver*, *Soil 7*, dan *Citrous Leaves* memberikan harga akurasi, presisi dan batas deteksi seperti disajikan pada Tabel 3.

Validasi metoda uji pada Tabel 3, menggunakan SRM *Bovine Liver* dan *Citrous Leaves* tidak dapat dilakukan untuk unsur Cr karena keberadaan unsur Cr dalam SRM sangat rendah, sehingga metoda nyala SSA tidak mampu mendeteksi unsur Cr dalam SRM *Bovine Liver*, dan *Citrous Leaves*, demikian juga validasi unsur Cu menggunakan SRM *Soil 7*.

Berdasarkan perolehan harga akurasi, dan presisi dapat dikatakan bahwa metoda nyala SSA mempunyai validitas yang cukup baik yaitu dengan memberikan akurasi dan presisi yang berada di bawah 5 %.

KESIMPULAN

1. Berdasarkan perolehan presisi dan kepekaan pada validasi alat uji dapat disimpulkan alat uji spektrometri serapan atom (SSA) masih layak digunakan sebagai alat uji.
2. Validasi metoda nyala serapan atom (SSA) masih memenuhi persyaratan dengan harga presisi, dan akurasi yang berada di bawah 5%.

DAFTAR PUSTAKA

1. SNI 19-17025-2000, Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi, BSN, Jakarta (2000).
2. SAMIN, SUPRIYANTOP, KRIS TRI BASUKI, "Standardisasi Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) Dengan Kalibrasi", Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Standardisasi Dan Jaminan Mutu, Jakarta, (2003), hal 70 - 80.
3. KENSAKU OKAMOTO DAN KEIICHIRO FUWA, "Low-Contamination Digestion Bomb Method Using Teflon Double Vessel for Biological Materials", Journal Of Analytical Chemistry, Vol. 56, No. 9, (1984), p 1758-1760.
4. ASTM E 663-86 (Reapproved 1991), Standard Practice For Flame Atomic Absorption Analysis, American Nasional Standard, Philadelphia, (1991).

5. National Institute of Standards and Technology, Certificate Reference Materials 1577b Bovine Liver, NBS, Gaithersburg, (1991).
6. National Institute of Standards and Technology, Certificate Reference Materials 1572 Citrous Leaves, NBS, Washington D.C., (1991).
7. International Atomic Energy Agency, Certificate Reference Materials Soil 7, IAEA, Viienna, (1978)

TANYA JAWAB

Sukirno

- Akurasi untuk unsur Cr pada kadar sertifikat Citrous leaves ($Cr\ 0,8 \pm 0,2\ ppm$) dan soil 7 $Cr = 60\ ppm$, kenapa akurasi tidak ada untuk Cr 0,8 sedangkan soil 7 = 2%?
- Berapa batas deteksi untuk unsur-unsur yang diteliti (Fe, Cu, Cr dan Zn)?

Supriyanto C.

- Akurasi yang diperoleh pada analisis Cr dalam SRM Citrous leaves pada tabel tidak ada, karena kadar Cr dalam citrous leaves sangat rendah, sehingga metode nyala SA tidak mampu mendeteksi Cr dalam citrous leaves.
- Batas deteksi Fe = 0,04 ppm; Cu = 0,05 ppm; Cr = 0,02 ppm; dan Zn = 0,01 ppm.

Iyuniarto

- Penentuan kepekaan dan presisi menggunakan larutan Cu 5 ppm, apakah bisa menggunakan larutan unsur yang lain?

Supriyanto C.

- Unsur Cu merupakan unsur yang relatif stabil, pada metode nyala AAS, karena relatif kecil gangguan dari unsur yang lain disamping itu unsur Cu mempunyai potensial ionisasi yang moderat, tidak mudah terionisasi juga mudah teratomkan.

Herry Poernomo

- Kadar Cu dalam sertifikat SRM soil 7 9 – 13 ppm, sedangkan batas deteksi Cu 0,05 ppm, pada tabel 2 kadar Cu hasil analisis dalam SRM soil 7 tidak tercantum, mengapa?

Supriyanto C.

- Kadar Cu dalam larutan SRM soil 7 sangat rendah, sehingga metode nyala SAA tidak mampu mendeteksi dan untuk validasi Cu

tidak dapat digunakan SRM soil 7, tetapi SRM yang lain yang kadar dan sertifikat relatif besar.