

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1. Ikan Pindang

Ikan pindang merupakan salah satu hasil olahan perikanan laut yang cukup populer di Indonesia, setelah ikan asap dan ikan asin. Hal tersebut didukung oleh cita rasa yang dimiliki ikan pindang lebih lezat dan tidak begitu asin jika dibandingkan ikan asin. Teknik pemindangan banyak dikenal dikalangan masyarakat secara tradisional untuk maksud agar produk ikan bisa tahan lebih lama serta dapat dipasarkan ke daerah yang cukup jauh, karena ketahanan produk ikan dengan teknik ini mencapai 3-4 hari. Pindang merupakan hasil olahan ikan dengan cara kombinasi perebusan (pemasakan) dan penggaraman. Produk yang dihasilkan merupakan produk awetan ikan dengan kadar garam rendah. Penggaraman yang diikuti perebusan telah lama dipraktekkan di Indonesia, dan dikenal sebagai proses pindang cue. (Nurani, 2007; Adawyah, 2007; Budiman., dkk, 2014)

Di Indonesia, pembuatan pindang cue sudah banyak dilakukan orang dengan tujuan untuk memperpanjang masa simpan kesegaran ikan. Pembuatan pindang cue lebih sederhana dibandingkan dengan pembuatan pindang pada umumnya. Rasanya pun lebih lezat dibandingkan dengan pindang biasa. Kebanyakan ikan-ikan yang di olah menjadi pindang cue adalah ikan-ikan yang berukuran kecil seperti ikan selar, layang, dan kembung. Proses pemindangan adalah cara pengawetan ikan dengan menggunakan suhu tinggi 100°C dan dengan waktu 2-3 jam yang bertujuan untuk membunuh dan memusnahkan mikroorganisme yang dapat mempengaruhi mutu dan daya simpan produk. (Adawyah, 2007)

Dalam proses pemindangan, proses pemanasan dikombinasikan dengan penggaraman. Tujuan penggaraman adalah untuk menarik air dari dalam jaringan ikan yang menyebabkan kandungan air pada daging ikan berkurang sehingga bakteri pembusuk menjadi sulit berkembang. Kombinasi penggaraman-pemanasan tersebut menyebabkan ikan pindang mempunyai daya awet yang lebih lama. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia dijelaskan bahwa pemindangan cue adalah proses pemindangan dimana ikan dan garam yang telah tersusun dalam wadah tembus air (besek, keranjang, bambu) dicelupkan dalam larutan garam mendidih dan direbus selama waktu yang singkat dalam beberapa menit. Setelah perebusan, wadah ikan diangkat, disiram atau direndam sebentar dengan air tawar untuk membersihkan permukaan ikan yang selanjutnya ditiriskan dan didinginkan. (SNI, 2009)

II.2. Logam Timbal

Timbal atau yang biasa disebut timah hitam merupakan logam lunak yang berwarna putih keperakan atau keabu-abuan, mempunyai titik lebur $327,5^{\circ}\text{C}$ dan titik didih 1744°C . Timbal mempunyai simbol Pb; nomor atom 82; berat atom 207,2; berat jenis 11,34. Dalam sistem periodik, logam Pb termasuk dalam grup IV A dan mempunyai valensi 0, +2, dan +4. Pb^{+2} biasanya ditemukan dalam bentuk garam anorganik, sedangkan Pb^{4+} adalah unsur utama dalam senyawa organik. Simbol Pb untuk timbal adalah singkatan dari kata Latin untuk timbal, plumbum. Timbal memiliki titik lebur dan rendah, mudah dibentuk, serta mudah dikombinasikan dengan logam lain untuk membentuk logam campuran. Dengan alasan tersebut, timbal

telah digunakan oleh manusia selama ribuan tahun dan banyak digunakan hingga sekarang.

Timbal merupakan logam berat yang tersebar lebih luas di alam dibandingkan logam toksik lain. Sumber pencemaran Pb^{2+} dapat berasal dari tanah, udara, air, hasil pertanian limbah pengolahan emas, industri rumah dan percetakan. Sumber kontaminasi terbesar Pb di lingkungan adalah dari hasil tambang timbal digunakan untuk produksi Pb tetraetil, yang ditambahkan pada bensin sebanyak 1 mL/L bensin sebagai antiknock. Pb tetraetil digunakan secara luas sebagai bahan tambahan pada bensin selama tahun 1930 hingga 1970. Namun, setelah itu penggunaannya sudah dieliminasi oleh sebagian besar negara karena terbukti berdampak buruk bagi kesehatan. Selain itu, paparan timbal juga berasal dari penguapan batubara di mana timbal dapat dijumpai dalam jumlah yang sangat kecil, juga dapat dijumpai pada tangki air yang menggunakan pipa yang mengandung timbal. Timbal juga dapat dijumpai pada baterai, insektisida, tinta bekas, serta cat yang mengandung timbal. Penggunaan timbal yang paling umum saat ini berasal dari baterai yang didaur ulang. Sekitar 97% baterai di dunia dilaporkan didaur ulang, terutama di negara berpenghasilan rendah. Timbal merupakan bahan alami yang terdapat dalam kerak bumi. Oleh karena itu, aktivitas alam seperti proses pelapukan dan erupsi gunung berapi juga dilaporkan berkontribusi secara signifikan terhadap polusi logam berat ini di lingkungan.

Timbal diabsorpsi terutama melalui saluran cerna dan saluran napas. Timbal juga mampu diabsorpsi melalui kulit, namun dalam jumlah yang tidak signifikan dan terbatas. Absorpsi timbal melalui saluran

napas dipengaruhi oleh ukuran partikel, kecepatan ventilasi dalam bernapas, serta mekanisme klirens pada sistem mukosilier saluran pernapasan. Sedangkan pada saluran pencernaan, timbal diabsorpsi melalui usus orang dewasa kira-kira 10%, pada anak kira-kira 40%. Absorpsi melalui saluran gastrointestinal sangat tergantung pada faktor nutrisi. Ada dugaan bahwa timbal dan kalsium berkompetisi dalam transport lewat mukosa usus, karena ada suatu hubungan timbal-balik antara kadar kalsium makanan dan absorpsi timbal. Selain itu, vitamin C, zat besi, zinc, dan fosfor mengurangi kadar timbal dalam darah melalui mekanisme penurunan absorpsi. Timbal yang telah diabsorpsi kemudian terdistribusi di darah, jaringan lunak, tulang, gigi, dan rambut. Timbal mula-mula terdistribusi di jaringan lemak, terutama dalam ginjal dan hati. Kemudian mengalami redistribusi ke dalam tulang (95%), gigi, dan rambut. Sejumlah kecil Pb ditimbun dalam otak. Dalam sirkulasi, 99% timbal berikatan dengan eritrosit. Bila kadar Pb relatif tinggi, barulah ditemukan Pb dalam plasma. Sekitar 70% timbal diekskresikan ke urin. Kadar Pb dalam urin berbanding langsung dengan kadarnya dalam plasma. Namun, sebagian besar dari Pb berada dalam eritrosit sehingga sangat sedikit Pb yang ditemukan dalam urin. Dalam jumlah yang lebih sedikit, Pb juga diekskresikan melalui empedu, kulit, rambut, kuku, keringat, serta ASI.

Sebagian besar Pb di akumulasi oleh organ tanaman seperti daun, batang, akar dan akar umbi-umbian (Sunu, 2001). Menurut Kusnopranto (2006) Timbal telah lama dikenal sebagai zat yang berbahaya untuk ikan dan satwa liar lainnya. Sedangkan untuk manusia, Timbal adalah elemen neurotoksik yang dapat diserap oleh

tubuh. Tubuh kita mampu mengeluarkan timbal jika paparan timbal yang masuk ke tubuh kurang dari 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ berat badan per hari. Timbal adalah logam toksik yang bersifat kumulatif sehingga mekanisme toksitasnya dibedakan menurut beberapa organ yang dipengaruhi, yaitu sebagai berikut :

1. Sistem hemopoetik: timbal akan menghambat sistem pembentukan hemoglobin sehingga menyebabkan anemia
2. Sistem saraf pusat dan tepi: dapat menyebabkan gangguan ensefalopati dan gejala gangguan saraf perifer
3. Sistem ginjal : dapat menyebabkan aminoasiduria, fosfaturia, glukosuria, nefropati, fibrosis dan atrofi glomerular
4. Sistem gastrointestinal: dapat menyebabkan kolik dan konstipasi
5. Sistem kardiovaskular: menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler pembuluh darah
6. Sistem reproduksi: dapat menyebabkan kematian janin pada wanita dan hipospermia dan teratospermia (Darmono, 2001).

II.3. Migrasi Logam Timbal

Migrasi merupakan perpindahan bahan kimia baik itu polimer, monomer, ataupun katalisator kemasan (contoh formalin dari kemasan/wadah melamin) kedalam pangan. Migrasi bahan kimia tersebut memberikan dampak berupa penurunan kualitas pangan dan keamanan pangan, juga menimbulkan efek terhadap kesehatan. Jumlah senyawa termigrasi pada umumnya tidak diketahui secara pasti, tetapi dapat berpengaruh fatal terutama pada jangka panjang (bersifat kumulatif dan karsinogenik).

Faktor yang mempengaruhi migrasi adalah jenis serta konsentrasi bahan kimia yang terkandung, sifat dan komposisi pangan, suhu dan lama kontak serta kualitas bahan kemasan (jika bahan bersifat inert atau tidak mudah bereaksi maka potensi migrasinya kecil dan demikian pula sebaliknya). Migrasi bahan toksik merupakan masalah serius jangka panjang bagi kesehatan konsumen, oleh karena itu diperlukan perhatian khusus dalam pemilihan kemasan pangan. Menyikapi keberadaan jenis bahan kemasan yang mudah bermigrasi kedalam produk pangan, diperlukan kebijakan khusus yang efektif dan mencapai sasaran dalam pemilihan kemasan. (BPOM, 2011)

II.4. Logam Timbal Pada Ikan Pindang

Akumulasi logam berat timbal pada ikan dapat terjadi karena adanya kontak antara medium yang mengandung timbal dengan ikan. Kontak antara medium yang mengandung timbal dengan ikan tersebut dapat terjadi secara alami di perairan ataupun karena adanya perlakuan pada saat proses pemindangan.

Akumulasi logam berat timbal pada ikan dapat secara alami di perairan karena timbal yang masuk ke dalam ekosistem perairan yang menjadi sumber pencemar bagi biota laut, salah satunya ikan. Masuknya logam berat timbal kedalam tubuh organisme perairan dengan tiga cara yaitu melalui makanan, insang, dan difusi melalui permukaan kulit. (Sudarwin, 2008)

Logam berat dapat mencemari ikan pindang dapat pula dengan cara kesalahan perlakuan pada saat pemindangan, yaitu pada proses pengemasan. Proses pengemasan ikan pindang dimana ikan dikemas

menggunakan kertas koran yang mengandung tinta kemudian di rebus selama berjam-jam. Perlakuan tersebut dapat mengakibatkan tecemarnya ikan pindang oleh logam berat timbal yang berada pada kertas koran yang mengandung tinta tersebut.

II.5. Syarat Keamanan Pangan Kemasan Produk dan Syarat Keamanan Pangan Timbal pada Produk Ikan Olahan

Kemasan pangan adalah bahan yang digunakan untuk mewadahi dan atau membungkus pangan baik yang bersentuhan langsung dengan pangan maupun tidak. Fungsi kemasan diantaranya adalah untuk mencegah terjadinya pembusukan dan kerusakan, melindungi produk dari kotoran dan membebaskan pangan dari jasad renik patogen. Secara umum, jenis-jenis kemasan pangan antara lain : kemasan plastik, kemasan logam, kemasan kaca, kemasan komposit dan kemasan kertas. Kemasan pangan harus terhindar dari bahan atau zat kontak pangan yang terkontaminasi mikroorganisme, logam berat ataupun zat yang berbahaya lainnya. Kontaminan seperti mikroorganisme, logam berat, atau pun zat berbahaya lainnya dapat bermigrasi ke produk yang di kemasnya. (BPOM, 2007)

Undang-undang nomor 18 tahun 2012, Bab VII bagian keenam Standar Kemasan Pangan pasal 83, dinyatakan bahwa setiap orang yang melakukan produksi pangan untuk diedarkan dilarang menggunakan bahan apapun sebagai kemasan pangan yang dinyatakan terlarang dan atau yang dapat melepaskan cemaran yang merugikan atau membahayakan kesehatan manusia, dan wajib melakukan pengemasan pangan secara benar untuk menghindari pencemaran terhadap pangan. Kemasan pangan yang tidak diizinkan

digunakan sebagai kemasan pangan salah satunya adalah kemasan pangan dengan tinta yang tercetak langsung pada kemasan pangan. (BPOM, 2012)

World Health Organization (WHO) bekerja sama dengan Food Additives Organization (FAO) mengeluarkan peraturan mengenai timbal yang masih dapat di toleransi dalam tubuh yaitu tidak lebih dari 25 µg/orang/minggu atau 0,05 mg/kg BB/minggu. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) menetapkan bahwa kadar maksimum timbal dalam darah adalah 10 µg/dL. Di Indonesia sendiri, Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) menetapkan bahwa kadar timbal dalam ikan dan produk perikanan adalah 0,20 mg/kg, terkecuali untuk ikan predator olahan seperti cucut, marlin dan ikan tuna. (WHO, 2010; CDC, 2013; BPOM, 2017)

II.6. Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel sangat menentukan keberhasilan dalam suatu analisis. Preparasi sampel dapat dilakukan dengan metode destruksi basah (*wet digestion*) ataupun destruksi kering (*dry ashing*). Pemilihan metode destruksi tersebut tergantung pada sifat zat organik dalam sampel, zat anorganik yang ada dalam bahan, logam berat yang akan dianalisis dan sensitivitas yang digunakan.

II.6.1 Destruksi Basah (*wet digestion*)

Destruksi basah yaitu perombakan sampel (organik atau biologis) dengan pengoksidasi kuat seperti asam-asam kuat baik tunggal maupun campuran. Keberhasilan destruksi ditandai dengan diperoleh larutan jernih pada larutan destruksi. (Anderson, 1987)

II.6.2 Destruksi Kering (*dry ashing*)

Destruksi kering umumnya dilakukan dengan membakar habis bagian organik dan meninggalkan residu anorganik sebagai abu untuk analisis lebih lanjut. Destruksi kering hampir dapat diterapkan pada semua analisa mineral, kecuali merkuri dan arsen. Pada destruksi kering harus diperhatikan suhu pengabuan, karena sering kali terjadi kehilangan unsur-unsur mikro dan juga dapat terjadi reaksi antara unsur dengan wadah.

II.7. Spektrofotometer Serapan Atom

II.7.1 Pengertian Spektrofotometer Serapan Atom

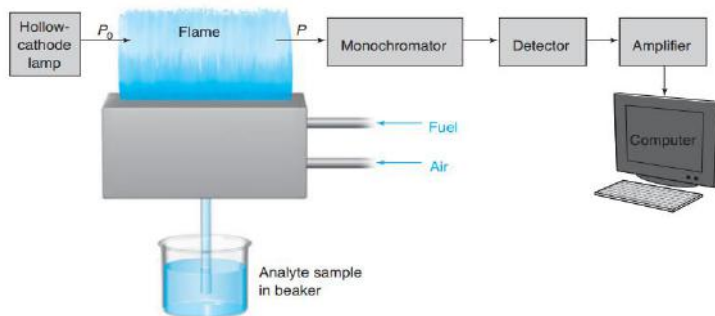
Spektroskopi adalah ilmu yang mempelajari materi dan atributnya berdasarkan cahaya, suara atau partikel yang dipancarkan, diserap atau dipantulkan oleh materi tersebut. Dalam masa modern, definisi spektroskopi berkembang seiring teknik-teknik baru yang dikembangkan untuk memanfaatkan tidak hanya cahaya tampak, tetapi juga bentuk lain dari radiasi elektromagnetik dan non-elektromagnetik seperti gelombang mikro, gelombang radio, elektron, fonon, gelombang suara, sinar x dan lain sebagainya.

Menurut Gandjar (2007) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) digunakan untuk analisis kuantitatif unsur-unsur logam dalam jumlah sekelumit (*trace*) maupun sangat kelumit (*ultratrace*) karena mempunyai kepekaan yang sangat tinggi, pelaksanaannya relatif sederhana dan interferensinya sedikit. Cara analisis menggunakan SSA tmemberikam kadar total unsur logam dalam suatu sampel dan

tidak tergantung pada bentuk molekul dari logam pada sampel tersebut.

SSA merupakan metode analisis yang didasarkan pada proses penyerapan energi radiasi oleh atom-atom yang berada pada tingkat energi dasar (*ground state*). Penyerapan akan menyebabkan electron akan tereksitasi ke dalam kulit atom pada tingkat energi yang lebih tinggi (*exited state*). Pengurangan intensitas radiasi yang diberikan sebanding dengan jumlah atom pada tingkat energi dasar yang menyerap energi radiasi tersebut. Dengan mengukur intensitas radiasi yang diteruskan (transmitasi) atau dengan mengukur intensitas radiasi yang diserap (absorbansi), maka konsentrasi unsur logam dalam sampel dapat ditentukan. (Harris, 2010)

II.7.2 Instrumen Spektrofotometer Serapan Atom



Gambar II.1. Sistem peralatan Spektrofotometer Serapan Atom
(Harris, 2010)

1. Sumber Sinar

Sumber sinar yang lazim dipakai adalah lampu katoda berongga (*hollow cathode lamp*). Lampu ini terdiri dari tabung kaca tertutup yang mengandung katoda dan anoda. Katode berbentuk silinder berongga yang terbuat dari logam atau dilapisi dengan logam tertentu yang diisi dengan gas mulia (neon atau argon) bertekanan rendah (10-15 torr). Bila diantara anoda dan katoda di beri selisih tegangan yang tinggi maka katoda akan memancarkan berkas-berkas elektron yang bergerak menuju anoda dengan kecepatan dan energi yang sangat tinggi. Dalam perjalanannya elektron yang bergerak menuju anoda akan bertabrakan dengan gas mulia, akibat dari tabrakan ini unsur-unsur gas mulia kehilangan elektron dan menjadi ion bermuatan positif. Ion bermuatan positif akan bergerak menuju katoda yang berisi unsur yang akan dianalisis dengan kecepatan dan energi yang tinggi pula, unsur-unsur akan terlempar keluar permukaan katoda dan mengalami eksitasi ke tingkat elektron yang lebih tinggi, yang kemudian memancarkan spektrum pancaran dengan spectrum yang akan dianalisis. (Gandjar, 2007 ; Welz dan Michael, 2005 ; Harris, 2010)

2. Sistem Atomisasi

Sistem pengatoman bertujuan untuk menghasilkan atom-atom bebas sebagai media absorpsi atau sel serapan. Sistem atomisasi terbagi menjadi dua yaitu :

a. Sistem atomisasi nyala (*Flame Atomizer*)

Kebanyakan instrumen SSA sumber atomisasinya adalah nyala dan sampel dimasukan sebagai larutan. Larutan sampel yang berada dalam tempat sampel akan dihisap ke dalam *nebulizer* oleh aliran oksidan yang cepat (biasanya udara) melewati ujung kapiler sampel. Cairan pecah menjadi kabut halus saat melewati kapiler, dimana tetesan pecah menjadi partikel yang lebih kecil. *Nebulizer* mengubah sampel cair menjadi aerosol. Aerosol kemudian memasuki nyala (*flame*) dihubungkan oleh ruang penyemprot (*chamber spray*). Aerosol yang mencapai mencapai nyala hanya mengandung sekitar 5% dari sampel awal. Ketika droplet aerosol mencapai nyala (*flame*) akan terjadi penguapan pelarut, butiran aerosol akan menjadi padatan. Dengan panas nyala, maka akan terjadi perubahan bentuk dari padatan menjadi gas dan senyawa yang terdapat dalam sampel akan berdisosiasi menjadi bentuk atom-atomnya. Atom-atom yang berada pada tingkat energy terendah kemudian akan menyerap radiasi yang diberikan oleh sumber cahaya. (Welz dan Michael, 2005; Harris, 2010, Skoog, West dan Holler, 1991)

Terdapat dua buah kombinasi oksidan-bahan bakar nyala yang sering digunakan dalam SSA, yaitu udara-asetilen dan nitrogen oksida-asetilen. Udara-asetilen lebih dipilih untuk analisis unsur dengan SSA. Suhu dari campuran gas ini sekitar 2300 °C. Sedangkan campuran nitrogen oksida-asetilen ini digunakan untuk analisis unsur yang cenderung membentuk oksida yang stabil. (Skoog, West dan Holler, 1991; Harris, 2010)

b. Sistem atomisasi Elektrotermal (*Electrothermal Atomizer*)

Sistem atomisasi elektrotermal menggunakan Graffit Furnace yang dipanaskan dengan listrik. Teknik atomisasi elektrothermal ini dapat melalui 3 tahap, yaitu : pengeringan (drying) yang membutuhkan suhu yang relatif rendah; pengabuan (ashing) yang membutuhkan suhu lebih tinggi; dan pengatoman (atomizing). (Gandjar, 2007 ; Perkin-Elmer Corporation, 1996 ; Harris, 2010)

3. Monokromator

Monokromator merupakan bagian yang sangat penting. Monokromator diperlukan untuk memisahkan garis serapan spektral lain yang dipancarkan dari HCL dan serapan elemen lain yang memiliki serapan spektra sama dengan sampel. Dengan kata lain, monokromator memilih panjang gelombang cahaya tertentu yang diserap oleh sampel. (Gandjar, 2007 ; Haris, 2010)

4. Detektor

Detektor merupakan alat yang mengubah energi cahaya menjadi energi listrik, yang memberikan suatu isyarat listrik berhubungan dengan daya radiasi yang diserap oleh permukaan yang peka. Detektor digunakan untuk mengukur intensitas cahaya. Ada 2 cara yang dapat digunakan dalam system deteksi, yaitu : yang memberikan respon terhadap radiasi resonansi dan radiasi kontinyu; dan yang hanya memberikan respon terhadap radiasi resonansi. Detektor yang paling umum digunakan adalah tabung penggandaan foton atau *photomultiplier tube* (PMT). (Gandjar, 2007 ; Haris, 2010)

5. Sistem Pembacaan

Sistem pembacaan dilakukan dengan suatu alat yang telah terkalibrasi untuk suatu transmisi atau absorbansi. Hasil pembacaan dapat berupa angka atau kurva dari suatu *recorder* yang menggambarkan absorbansi atau intensitas emisi. (Gandjar, 2007 ; Haris, 2010)

II.7.3 Gangguan pada Analisis dengan Spektrofotometer Serapan Atom

1. Gangguan Spektra

Matriks sampel yang diuapkan mengandung bermacam-macam unsur lain yang mungkin saja dapat menimbulkan gangguan spektra. Gangguan spektra terjadi bila panjang gelombang unsur yang diperiksa berhimpit dengan panjang gelombang dari atom atau molekul lain yang terdapat dalam larutan yang diperiksa. Gangguan ini hamper tidak ada pada SSA karena digunakan sumber cahaya yang spesifik untuk unsur yang bersangkutan. (Ebdon, dkk, 1998)

2. Gangguan Fisika

Sifat-sifat fisika dari larutan yang diperiksa akan menentukan intensitas dari absorpsi atau emisi dari larutan zat yang diperiksa. Adanya variasi pada sampel (misalnya ketegangan permukaan, bobot jenis dan kekentalan) dan kecepatan gas dapat mempengaruhi proses atomisasi. Oleh karena itu, sifat-sifat fisika dari zat yang diperiksa dan larutan pembanding harus sama. Efek ini dapat diperbaiki dengan

pemanasan yang cepat atau operasi secara isothermal. (Ebdon, dkk, 1998)

3. Gangguan Kimia

Gangguan kimia yang paling umum adalah gangguan yang disebabkan oleh terbentuknya senyawa yang sukar menguap antara lain anion dengan analit. Hal ini dapat mengurangi kecepatan atomisasi. Dalam hal tertentu gangguan ini dapat diatasi dengan menggunakan nyala atau dengan suhu yang lebih tinggi, misalnya nyala nitorgen oksida-asetilen. Hal ini juga dapat diatasi dengan menambahkan *realizing agent*, yaitu kation yang dapat bereaksi dengan anion pengganggu menggunakan *protective agent* yang akan bereaksi dengan analit membentuk senyawa stabil dan dapat menguap. Penambahan kedua agent ini akan mencegah reaksi antara anion pengganggu dengan analit. (Skoog, West dan Holler, 1991)

II.7.4 Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometer Serapan Atom

Untuk keperluan analisis kuantitatif dengan SSA, maka sampel harus berbentuk larutan. Larutan yang akan dianalisis haruslah sangat encer, jernih, stabil dan tidak terganggu zat pengotor. Ada beberapa metode kuantifikasi hasil analisis dengan metode SSA yaitu :

1. Kuantifikasi dengan Kurva Baku (Kurva Kalibrasi)

Kurva kalibrasi dalam SSA dibuat dengan memasukan sejumlah tertentu konsentrasi larutan dalam sistem dilanjutkan dengan pengukuran. Larutan dibuat paling tidak dibuat 4 baku dan 1 blanko

untuk membuat kurva kalibrasi. Absorbansi sampel tidak boleh melebihi dari absorbansi baku tertinggi dan tidak kurang dari absorbansi baku terkecil, dengan kata lain absorbansi sampel harus terletak pada kisaran absorbansi kurva kalibrasi.

2. Kuantifikasi dengan Perbandingan Langsung

Kuantifikasi dengan perbandingan langsung dilakukan jika telah diketahui bahwa kurva baku merupakan garis lurus dan melewati titik nol. Dihitung dengan rumus :

$$C_s = \frac{C_b}{A_b} \times C_b$$

3. Kuantifikasi dengan Dua Baku

Cara ini adaptasi dari cara 1 dan 2. Dibuat masing-masing 2 buah larutan baku yang konsentrasinya lebih rendah dan lebih tinggi dari konsentrasi sampel. Keuntungan cara ini yaitu komposisi atau konsentrasi baku mendekati konsentrasi atau komposisi sampel sehingga akan diperoleh presisi dan akurasi yang baik.

4. Kuantifikasi dengan Standar Adisi

Metode standar adisi digunakan untuk menghindari gangguan kimia dan gangguan spektra. Metode ini seringkali digunakan jika matriks tidak diketahui atau bervariasi. Prosedur standar adisi melibatkan pengukuran absorbansi (S), yang kemudian sejumlah kecil standar (Sx) ditambahkan pada sampel dan diukur absorbansinya (S+Sx). Larutan penambahan standar diulangi dengan menggunakan

konsentrasi baku S_x yang berbeda dan dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi.

II.8. Analisis Pb secara Spektrofotometer Serapan Atom

Parameter analisis sampel dengan SSA adalah sebagai berikut :

Tabel II.1 Parameter Pengukuran Pb dengan SSA

(Supriyanto, dkk., 2007)

Parameter	Satuan	
Panjang Gelombang	Nm	217
Laju alir asetilen	L/menit	1,7
Laju alir udara	L/menit	13,5
Kuat arus HCL	uA	5,0
Lebar celah	mm	1,0
Tinggi Burner	mm	14

Larutan sampel hasil destruksi mengandung logam timbal dalam bentuk garam. Larutan ini kemudian diubah menjadi aerosol dan berdisosiasi menjadi bentuk atom-atomnya. Beberapa atom akan tereksitasi secara termal oleh nyala, tetapi kebanyakan atom tetap tinggal sebagai atom netral pada tingkat energi terendah (*ground state*). Atom-atom yang berada pada tingkat energi terendah ini kemudian menyerap cahaya yang dipancarkan sumber sinar.

Senyawa organik yang menempel pada logam yakni $\text{Pb}(\text{CH}_2\text{O})$ pada saat di destruksi dengan HNO_3 akan menjadi $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Selanjutnya sampel akan masuk pada *nebulizer* yang kemudian akan dikabutkan yang berarti $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ menyebar tidak pada berkumpul menjadi satu. Selanjutnya sampel akan masuk pada burner, nitrat tersebut kembali diuapkan dan Pb menjadi atom. Atom Pb tersebut akan menyerap cahaya yang dipancarkan oleh sumber sinar dan dibaca oleh detector.

II.9. Validasi Metode Analisis

Validasi metode adalah merupakan suatu proses pembuktian melalui pengujian analisis di laboratorium untuk memberikan data-data tentang kehandalan suatu metode dari suatu prosedur yang digunakan (Harmita, 2004). Hasil uji validasi dari metode analisis dapat dinyatakan dalam beberapa parameter yaitu:

II.9.1 Uji Linearitas

Linieritas adalah suatu koefisien korelasi antara konsentrasi larutan standar baku dengan absorbansi yang dihasilkan yang merupakan suatu garis lurus. Metode analisis yang menggambarkan kemampuan suatu alat untuk memperoleh hasil pengujian yang sebanding dengan kadar analitik alat dalam sampel uji pada rentang konsentrasi tertentu atau untuk membuktikan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi analit yang sebenarnya dengan respon alat. Uji linieritas dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi yang dapat menghasilkan persamaan garis regresi serta nilai koefisien determinasi yaitu untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan baku dengan nilai absorpsi yang dihasilkan.

Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier $y = a + bx$. Dalam suatu analisis, harga koefisien korelasi (r) ini sebaiknya $>0,99$

II.9.2 Batas Deteksi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan 21 dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis itu menggunakan instrumen atau tidak. Pada analisis yang tidak menggunakan instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blangko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blangko. Penentuan limit deteksi dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi x/y ($SD\ x/y$) dan kemiringan (slope) linieritas baku.

$$\text{Batas Deteksi} = \frac{3Sy/x}{b}$$

II.9.3 Batas Kuantifikasi

Batas kuantifikasi adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurat. Parameter ini digunakan untuk pengujian kuantitatif analit dengan jumlah kecil yang terkandung dalam sampel dan digunakan untuk pengukuran cemaran serta produk degradasi. Untuk penentuan limit kuantitasi dapat digunakan rumus:

$$\text{Batas Kuantifikasi} = \frac{10Sy/x}{b}$$

II.9.4 Uji Akurasi

Akurasi adalah suatu kedekatan kesesuaian antara hasil suatu pengukuran dan nilai benar dari kuantitas yang diukur atau suatu pengukuran posisi yaitu seberapa dekat pengukuran terhadap nilai benar. Ada tiga macam metode yang dapat dilakukan untuk uji akurasi, antara lain:

- a. Material standar dilakukan dengan membandingkan hasil akurasi analisis uji terhadap cuplikan acuan standar atau Standard Reference Material).
- b. Metode baku dilakukan dengan membandingkan hasil analisis analit dengan metode yang divalidasi terhadap hasil dengan metode standar.
- c. Perolehan kembali (recovery) dilakukan dengan menambahkan sejumlah kadar analit yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam matriks sampel yang akan dianalisis.

Uji perolehan kembali (recovery) lebih sering digunakan dibanding dengan material standar dan metode baku, karena uji recovery lebih mudah dilakukan dan dengan biaya yang lebih murah. Uji perolehan kembali dilakukan untuk mengukur ketepatan hasil dari analisis yang telah dilakukan. Dicoba dua perlakuan yang diambil dari satu contoh atau contoh yang sama, masing-masing satu untuk contoh yang ditambahkan standar dan satu lagi untuk larutan blangko (contoh tanpa penambahan larutan standar). Uji akurasi dapat diukur dengan menentukan presentase perolehan kembali (% recovery) dari analit

yang ditambahkan ke dalam contoh. Suatu metode dikatakan valid apabila nilai presentase recovery dari suatu standar antara 90-110% .Namun jika komponen yang dianalisis merupakan trace analysis maka presentase recovery yang disyaratkan adalah $100\% \pm 20$

$$\text{Akurasi } d(\%) = \frac{\mu - x}{x} \times 100\%$$

Keterangan :

x = konsentrasi standar

μ = konsentrasi standar yang terukur

II.9.5 Uji Presisi

Presisi adalah suatu ukuran penyebaran (dispersi suatu kumpulan hasil), kedekatan dari suatu rangkaian pengukuran berulang-ulang satu sama lain. Presisi diterapkan pada pengukuran berulang-ulang sehingga menunjukkan hasil pengukuran individual didistribusikan sekitar nilai rata-rata tanpa menghiraukan letak nilai rata-rata terhadap nilai benar.

Presisi menggambarkan kesalahan acak dari suatu hasil pengukuran. Kesalahan acak berasal dari pengaruh-pengaruh yang tidak dapat diperkirakan, bervariasi terhadap ruang, dan bersifat sementara. Kesalahan acak sulit untuk dihindari, banyak berhubungan dengan instrument ukur, peralatan contoh yang diukur, prosedur, dan lingkungan. Menurut Gandjar, 2007, penentuan presisi dapat dilakukan dengan tiga cara, antara lain:

- a. Repitabilitas, yaitu: keterulangan dilakukan dalam kondisi yang sama dalam interval waktu yang singkat. Kondisi sama disini

dapat diartikan dengan penggunaan laboratorium yang sama, analisis yang sama, dan pereaksi serta peralatan yang sama.

- b. Presisi antara, yaitu keterulangan dilakukan dalam laboratorium yang sama dengan melakukan pengujian pada hari yang berbeda, oleh analis yang berbeda, dan menggunakan pereaksi serta peralatan yang berbeda.
- c. Reprodusibilitas, yaitu keterulangan yang menyatakan presisi antarlaboratorium sehingga dilakukan pada kondisi yang telah ditentukan di laboratorium yang berbeda, pada hari yang berbeda, dan menggunakan peralatan serta pereaksi yang berbeda pula.

Presisi dinyatakan sebagai presentase Relative Standard Deviation (%RSD) dari suatu seri pengukuran :

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

RSD kurang dari 2 menunjukan metode uji tergolong teliti.