

PENGGUNAAN BAHAN ACUAN BERSERTIFIKAT *OYSTER TISSUE 1566b* SEBAGAI *INTERNAL QUALITY CONTROL* UNTUK MENENTUKAN KADAR TIMBAL TOTAL DALAM TEPUNG IKAN MARLIN DENGAN *ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY*

APPLICATION OF CERTIFIED REFERENCE MATERIAL OYSTER TISSUE 1566b AS INTERNAL QUALITY CONTROL TO DETERMINE OF TOTAL LEAD IN MARLIN FISH POWDER USING ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

Willy Cahya Nugraha dan Yohanes Susanto Ridwan

Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

Jl. Cisitua Sangkuriang, Bandung 40135

Email : wil003@lipi.go.id

Diterima : 30 Juli 2015, Revisi : 14 Agustus 2015, Disetujui : 25 September 2015

ABSTRAK

Timbal telah secara meluas dikenal sebagai salah satu polutan yang berbahaya bagi manusia. Tercemarnya produk perikanan oleh timbal akan menimbulkan bahaya bagi kesehatan manusia yang mengkonsumsinya, oleh karenanya monitoring kandungan zat pencemar tersebut merupakan hal yang penting untuk dilakukan. Untuk meyakinkan bahwa data analisis yang diperoleh mempunyai hasil yang valid, diperlukan suatu *internal quality control* terhadap mutu hasil pengujian yaitu dengan penggunaan bahan acuan bersertifikat *Oyster Tissue 1566b*. Contoh tepung ikan marlin dan bahan acuan bersertifikat dianalisis dengan metode, personil, waktu, peralatan dan kondisi lingkungan pengujian yang sama. Hasil penelitian ini, diperoleh nilai kadar timbal bahan acuan bersertifikat $0,306 \text{ mg.kg}^{-1}$ dengan 11,9 % *rsd* berada dalam rentang nilai yang terdapat dalam sertifikat, sehingga pengujian kadar timbal dalam contoh ($1,821 \text{ mg.kg}^{-1}$ dengan 11,06 % *rsd*) yang telah dianalisis mempunyai tingkat keyakinan yang tinggi.

Kata kunci: timbal, bahan acuan bersertifikat, ikan marlin

ABSTRACT

Lead is widely known as one of the harmful pollutants for humans. Contaminated fishery built by lead may endanger the consumption body. Therefore, contamination monitoring for the fishery products is necessary to be conducted. To ensure the validity of data, Oyster Tissue 1566b certified reference material was used as Internal Quality

*Control. Marlin fish powder and certified reference materials were analyzed with the same method, personnel, duration or time, equipment and environmental conditions. As the results, it was found that the lead contained in CRM was 0.306 mg.kg^{-1} with 11.9 % *rsd*, which is within range of lead content in the certificate. The method was applied for Marlin Fish. Lead content obtained in this study (1.821 mg.kg^{-1} with 11.06 % *rsd*) can be reported with high level of confidence.*

Keywords: Lead, Certified Reference Materials, Marlin fish

PENDAHULUAN

Timbal merupakan pencemar yang bersifat *toxic* bagi manusia dan masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan dan makanan⁽¹⁾. Timbal akan didistribusikan dan terakumulasi di dalam tubuh yaitu di organ hati dan ginjal. Timbal yang diabsorpsi oleh tubuh akan mengikat gugus aktif dari enzim ALAD (Amino Levulinic Acid Dehidratase), di mana enzim ini berfungsi pada sintesa sel darah merah. Adanya senyawa timbal akan mengganggu kerja enzim ini sehingga sintesa sel darah merah menjadi terganggu. Kelebihan timbal akan menyebabkan gangguan pada kesehatan organ tubuh, yaitu darah, hati

dan saraf⁽²⁾. Oleh karena itu, adanya produk perikanan yang tercemar akan berbahaya bagi kesehatan⁽³⁾. Pentingnya suatu data hasil analisis yang valid dan handal diperlukan untuk meningkatkan kepercayaan terhadap pengguna “user”. Dalam ISO/IEC 17025:2005 klausul 5.9 menyatakan bahwa laboratorium harus mempunyai prosedur mutu untuk memantau keabsahan pengujian. Salah satunya bahan yang dapat digunakan sebagai jaminan mutu yaitu kontrol sampel. Jenis kontrol sampel yang dapat dijadikan sebagai kontrol sampel yaitu bahan acuan bersertifikat (*Certified Reference Materials* atau CRM)⁽⁴⁾.

Bahan acuan bersertifikat yaitu bahan yang satu atau lebih sifatnya telah diberi sertifikat dengan prosedur teknis yang baku, dan dapat ditelusuri ke suatu sertifikat⁽⁵⁾. Pada pemilihan bahan acuan bersertifikat sebagai jaminan mutu pengujian, disyaratkan harus mempunyai matriks yang mirip atau hampir sama dengan matrik contoh, homogen, stabil dan mempunyai nilai yang tertelusur ke satuan internasional⁽⁶⁾. Penentuan timbal dalam produk perikanan merupakan analisis yang bersifat runtu (*trace*)⁽⁷⁾. Untuk mendeteksinya mengacu pada *American of Analytical Chemistry* (AOAC) 999.10 tahun 2005, dengan destruksi basah *Microwave Digestion System* (MDS) dan teknik pengukuran dengan *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry* (ETAAS)⁽⁸⁾.

Contoh dan bahan acuan bersertifikat dipreparasi dan diukur bersama-sama dengan menggunakan metode, waktu, personil, peralatan, dan kondisi lingkungan yang sama. Bahan acuan bersertifikat yang digunakan yaitu Oyster Tissue 1566b produksi *National Institute of Sciences and Technology* (NIST)⁽⁹⁾ yang mempunyai matrik hampir mirip dengan contoh. Penelitian ini bertujuan untuk menerapkan *Internal Quality Control* pada pengujian timbal dalam produk perikanan

menggunakan bahan acuan bersertifikat *Oyster tissue 1566* sebagai *quality control* sehingga hasil yang diperoleh akan terjamin kualitas datanya.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Asam-asam yang digunakan untuk preparasi sampel yaitu asam nitrat produksi kanto chemicals buatan Jepang, asam peroksida produksi Merck buatan Jerman, Standar timbal $998,2 \pm 2 \text{ mg.Kg}^{-1}$ yang digunakan untuk membuat standar kerja timbal produksi *Korea Research Institute of Standard and Sciences* (KRISS) buatan Korea Selatan, dan Aquabides yang digunakan untuk melarutkan contoh dan standar produksi Milli-Q buatan Jerman.

Alat

Peralatan yang digunakan untuk destruksi contoh menggunakan *Microwave Digestion Systems* (MDS) produksi Millestone buatan Amerika, dan *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometer* (ET-AAS) produksi Hitachi Z-500 buatan Jepang.

Metode

Verifikasi alat ETAAS

Pengecekan kinerja peralatan ETAAS menjadi fondasi untuk mendapatkan hasil yang akurat. Uji kinerja alat ETAAS ini meliputi:

Optimasi alat ET-AAS

Meliputi penggunaan kuat arus lampu katoda berongga, optimasi program suhu *ashing* dan *atomizing*, penggunaan jenis matrik *modifier* dan *injeksi contoh*.

Uji kinerja ETAAS

Meliputi penilaian kinerja ETAAS berdasarkan pada parameter analitik yaitu sensitivitas, presisi alat dan batas deteksi alat.

Optimasi tekanan dan suhu pada alat Microwave Digestion System (MDS).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode dari *American of Analytical Chemistry* (AOAC) metode 999.10 tahun 2005 yang telah dimodifikasi pada jumlah sampel, penambahan asam, penggunaan matriks modifier.

Aplikasi pada Contoh

Contoh yang akan dianalisis pada penelitian ini yaitu tepung ikan marlin yang telah homogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Adanya perbedaan data hasil uji dalam suatu laboratorium menyebabkan pentingnya suatu jaminan terhadap nilai hasil uji yang diperoleh. sehingga diperlukan penggunaan *quality control sample* yang dapat dijadikan sebagai jaminan terhadap suatu data hasil analisis. Penggunaan bahan acuan bersertifikat dapat dijadikan alat sebagai *internal quality control*. Untuk memperoleh data analisis yang absah diperlukan penilai terhadap beberapa parameter analitik. Adapun penilaian terhadap parameter kimia analitik yang telah dilakukan antara lain:

Verifikasi alat dan validasi metode

Penilaian terhadap unjuk kerja instrument ETAAS telah dilakukan dengan melakukan pengujian terhadap standar timbal $10 \mu\text{g kg}^{-1}$. hasil verifikasi alat ETAAS dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Kinerja ET-AAS Hitachi Z-5000

Parameter	Hasil Percobaan	Nilai Keberterimaan
Presisi alat (%rsd)	3,87%	$< 5\%$ ⁽¹⁰⁾
Sensitivitas alat	$0,929 \mu\text{g L}^{-1}$	$< 2 \mu\text{g L}^{-1}$ ⁽¹¹⁾
Batas deteksi alat	$0,942 \mu\text{g/L}$	-

Pada Tabel 1, diperoleh nilai sensitivitas alat ETAAS hasil percobaan sebesar $0,929 \mu\text{g L}^{-1}$, nilai tersebut lebih kecil dari nilai sensitivitas alat yaitu $2 \mu\text{g L}^{-1}$ menunjukkan bahwa alat ETAAS yang akan digunakan untuk pengujian contoh mempunyai unjuk kerja yang baik, Untuk hasil validasi metode dapat merujuk pada *Prosiding Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia*. hal 376-386, Universitas Riau tahun 2011⁽¹²⁾. Hasil validasi metode tersebut dapat digunakan untuk menentukan kadar timbal dalam matrik yang sama yaitu produk perikanan.

Aplikasi pada contoh

Contoh tepung ikan Marlin diuji bersama sama dengan CRM *Oyster Tissue 1566b* dengan metode uji, waktu, personil, peralatan, dan kondisi lingkungan yang sama. Hasil pengujian contoh dan CRM *Oyster Tissue 1566b* dihitung menggunakan persamaan 1 dan hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada Tabel.2 diperoleh kadar rata-rata timbal ($n=5$) dalam tepung ikan marlin sebesar $1,833 \text{ mg.kg}^{-1}$ dengan nilai presisi yang baik sebesar $11,06\%$ *rsd* yang berada dibawah nilai $0,67 \times \text{CV}$ Horwitz, dan kadar rata-rata timbal di dalam bahan acuan bersertifikat ($n=6$) sebesar $0,306 \text{ mg.Kg}^{-1}$ yang berada pada rentang keberterimaan yang terdapat dalam sertifikat CRM 1566b menunjukkan hasil yang diperoleh dari sampel mempunyai nilai akurasi dan presisi yang baik.

Tabel 2. Kadar timbal pada contoh Tepung Ikan Marlin dan bahan acuan bersertifikat *Oyster Tissue* 1566b

No. Contoh dan CRM	Kadar timbal dalam contoh (mg.Kg ⁻¹) Berat kering	Kadar timbal dalam bahan acuan bersertifikat (mg.Kg ⁻¹) Berat kering
1	1.704	0,3556
2	1.727	0,3439
3	1.625	0,2916
4	2.189	0,2998
5	1.919	0,2818
6	-	0,2626
Rata-rata	1.833	0,306
sd	0.203	0,036
% rsd	11.06	11,9
0.67 x CV Horwitz	13.63	12.81
Kadar Pb di Sertifikat (mg.Kg⁻¹) Berat kering	-	0.308 ± 0.009

Estimasi Ketidakpastian

Nilai ketidakpastian diperoleh berasal dari sumber yang dapat dikuantitasi pada pengujian tepung ikan Marlin, Tahapan menghitung ketidakpastian berdasarkan *Eurachem Guide* tahun 2012⁽¹⁾.

Prosedur Pengujian Contoh

Prosedur pengujian yang meliputi preparasi contoh ikan marlin dan pembuatan kurva kalibrasi eksternal Pb ditunjukkan seperti dalam Gambar 1.

Rumus pengujian

$$\frac{Co(\frac{mg}{Kg}) \times M(g) \times DF}{m(g)} \times \frac{1}{Rec} \times \frac{100}{(100 - wc)} \quad (1)$$

Keterangan:

- Co* : Konsentrasi timbal hasil plot kurva kalibrasi (mg.Kg⁻¹)
- M* : Berat pelarutan (g)
- DF* : Faktor pengenceran
- m* : Berat contoh (g)
- WC* : Kadar air (%)
- Rec* : Nilai Recovery dari CRM

Diagram Fish Bond

Diagram *Fish Bond* untuk perhitungan estimasi ketidakpastian pengukuran ditunjukkan seperti pada Gambar 2.

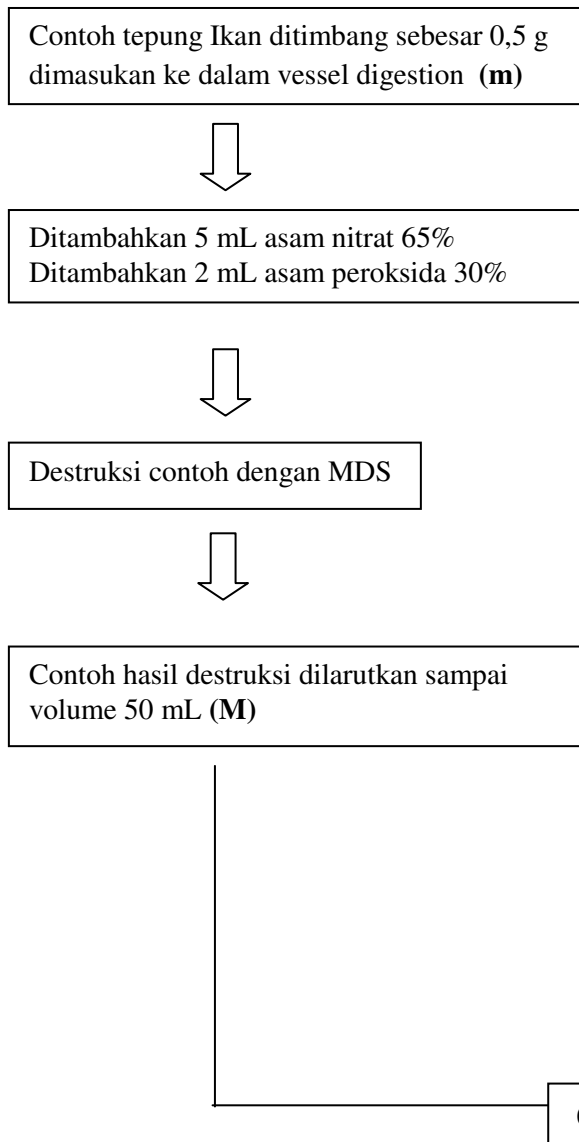
Ketidakpastian Diperluas

Ketidakpastian diperluas diperoleh dari perhitungan nilai ketidakpastian baku, nilai ketidakpastian relatif, dan nilai ketidakpastian gabungan dari masing-masing sumber ketidakpastian. Rumus untuk menghitung nilai ketidakpastian diperluas (*U_{diperluas}*) seperti pada persamaan 2. Sedangkan rumus untuk menghitung nilai ketidakpastian gabungan (*U_c*) menurut *Eurachem guide* tahun 2012 seperti pada persamaan 3.

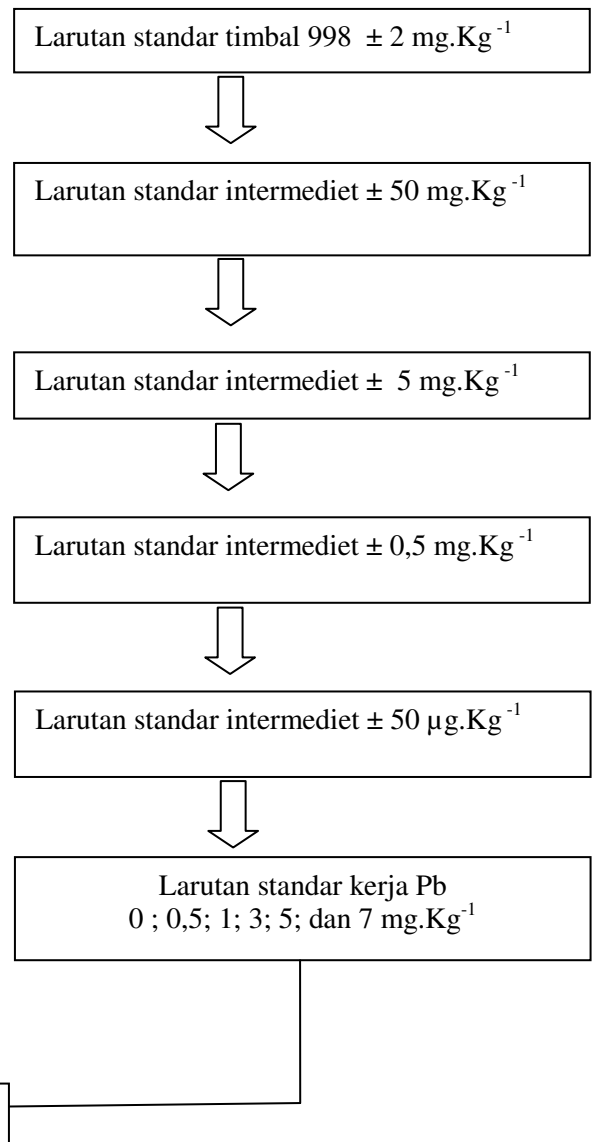
$$U_{Diperluas} = k \times U_{gabungan} \quad (2)$$

Dengan nilai k (faktor cakupan) bernilai 2. Hasil nilai ketidakpastian diperluas dapat dilihat pada Tabel 3.

***Preparasi Contoh**



***Pembuatan kurva kalibrasi eksternal Pb**

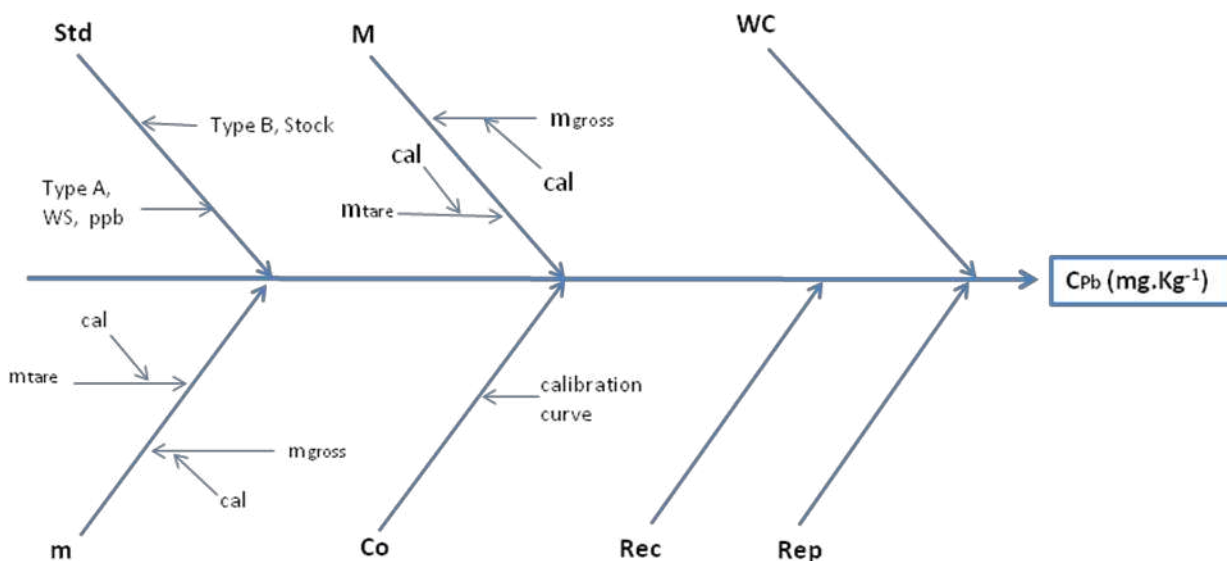


Gambar 1. Diagram alir metode pengujian timbal dalam Ikan Marlin

Dari Tabel 3, diperoleh nilai ketidakpastian diperluas sebesar 0,479 mg. Kg⁻¹, sumber komponen ketidakpastian dari *repeatability* yang menyumbang nilai ketidakpastian paling besar, diikuti dengan nilai dari komponen *recovery* sebagai

penyumbang terbesar kedua. Nilai *repeatability* yang besar dikarenakan kadar timbal dalam ikan Marlin yang sangat kecil (level ppb) sehingga berpotensi memberikan kesalahan random pada hasil akhir.

$$u_c = c \sqrt{\left(\frac{u_{c_0}}{c_0}\right)^2 + \left(\frac{u_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{u_{pel}}{m_{pel}}\right)^2 + \left(\frac{u_{C_{calstd_{ppeA}}}}{C_{calstd_{ppeA}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{c_{calstd_{ppeB}}}}{c_{calstd_{ppeB}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{repeat}}{repeat}\right)^2 + \left(\frac{u_{rec}}{Rec\ c}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{WC}}{WC}\right)^2} \quad (3)$$



Gambar 2. Diagram fish bond sumber komponen ketidakpastian, Eurachem, 2012

Tabel 3. Ketidakpastian baku masing-masing komponen, Ketidakpastian baku relatif, ketidakpastian baku diperluas

Sumber Ketidakpastian	Hasil (Xi)	Ketidakpastian baku (U _{Xi})	Ketidakpastian Baku Relatif (Xi / U _{Xi})	Ketidakpastian Baku Relatif ² [(Xi / U _{Xi}) ²]
Repeatability	-	-	0.1106	0.014161000
Recovery (Rec)	0.994	5.0270E-02	0.0506	0.002560168
Kadar Air (WC)	9.21	1.4309E-04	0.0000	0.000000000
Kurva Standar Kalibrasi Tipe B	998	1.0000E+00	0.0010	0.000001004
Kurva Standar Kalibrasi Tipe A	0.50005	8.8767E-05	0.0002	0.000000032
Volume Pelarutan (M)	50.00	7.0711E-05	0.0000	0.000000000
Berat Sampel (m)	0.351	7.0711E-05	0.0002	0.000000041
C ₀	1,285	5.6381E-02	0.0189	0.000355409
C	1,833	mg. Kg⁻¹		
U_{Gabungan}	0.239	mg. Kg⁻¹		
U_{Diperluas}	0.479	mg. Kg⁻¹		

KESIMPULAN

Pada penelitian ini, diperoleh kadar timbal dalam contoh tepung ikan marlin sebesar $1,833 \pm 0,479 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Hasil pengujian pada contoh tepung ikan marlin telah terjamin kualitas hasil pengujiaannya dengan bahan acuan bersertifikat *Oyster tissue* 1566b dengan nilai %recovery sebesar 99,35% dan tingkat kepercayaan 95 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada manajemen Pusat Penelitian Kimia yang telah memberikan anggaran untuk melaksanakan penelitian melalui Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA).

DAFTAR PUSTAKA

1. A.P. Carolina, et.al. Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation. *Analytica Chimica Acta*, 512: 329–337, (2004)
2. E. Naria. Mewaspada Dampak Bahan Pencemar Timbal (Pb) di Lingkungan Terhadap Kesehatan. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, 17 (4): 66-72, (2005)
3. V. Yilmaz, et.al. Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. *Food Chemistry*. 113: 1314–1317(2009)
4. INTERNATIONAL STANDARD ISO / IEC 17025. 2005.
5. International Vocabulary of Metrology: Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM) , 3rd Ed, ISO, Geneva, Switzerland, 2008.
6. V. Dufailly, L. Noël, and T. Guérin, Determination of chromium, iron and selenium in foodstuffs of animal origin by collision cell technology, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), after closed vessel microwave digestion. *Anal. Chim. Acta*. 565 (2): 214–221 (2006).
7. J. Chwastowska, W. Skwara, E. Sterlińska, and J. Dudek, “GF AAS Determination of Cadmium , Lead and Copper in Environmental Materials and Food Products after Separation on Dithizone Sorbent. *Chem, Anal*. 887(2008): 887–894(2009).
8. W. Horwitz. Lead, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron in Foods using Atomic Absorption Spectrophotometry after Microwave Digestion . AOAC Official Methods of Analysis 999.10. Chapter 9, 2000, pp. 16.
9. National Institute of Sciences and Technology. Oyster Tissue 1566b.
10. USFDA Elemental Analysis Manual: Section 4.1 Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Lead and Cadmium Extracted from Ceramic Foodware VERSION 1.1. September 2011.
11. ASTM. Standard Practice for Optimization of Electrothermal Atomic absorption Spectrometric Equipment E 663-86 (Reapproved 1991).
12. I. Hastiawan, W.C. Nugraha dan Y.S. Ridwan. 2011. Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Logam Timbal dalam Produk Perikanan dengan Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Prosiding Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia., Universitas Riau, Pekanbaru tanggal 18-19 Juli 2011, pp. 376-386.
13. Eurachem Guide. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd Edition, 2012, pp.1-132

