

PENETAPAN RAKSA DALAM TEPUNG IKAN SECARA SPEKTROMETRI ABSORPSI ATOM UAP DINGIN

Muljadji A^{1*}, Nurmandali¹, Fahyuddin², Tahid³.

¹Jurusan Kimia FPMIPA Unpad Bandung

²Pendidikan Kimia Universitas Haluoleo Kendari

³Pusat Penelitian Kimia – LIPI Bandung

ABSTRAK

Penetapan kandungan raksa dalam contoh tepung ikan menggunakan spektrometri absorpsi atom uap dingin (SAA-UD) dengan tiga metode destruksi basah telah dilakukan penelitian. Ketiga metode destruksi tersebut ialah: cara refluks yang merupakan cara standar, bom Teflon dengan pemanas oven listrik dan bom Teflon dengan pemanas oven gelombang mikro. Dipelajari pula pengaruh perbandingan antara volume bejana reduksi dan volume larutan yang mengandung sejumlah tertentu (125 ng) raksa untuk mendapatkan sensitivitas pengukuran yang terbaik, dengan menggunakan empat bejana reduksi bervolume: 50 mL, 100 mL, 250 mL, dan 500 mL dan volume larutan divariasikan masing-masing 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% dari volume setiap bejana. Hasil percobaan menunjukkan, makin kecil volume udara dan makin kecil volume larutan, sensitivitas menjadi lebih baik. Karakteristik kinerja analisis dengan menggunakan bejana 100 mL dan volume larutan ukur 20% (20 mL) merupakan kondisi yang optimum dengan limit deteksi 9,8 ng; sensitivitas 0,868 A/ μ g; kecermatan 5,9%; ketepatan 5,3% dan rentang linier 10 – 250 ng. Berdasarkan hasil uji kecermatan, kinerja kedua metode destruksi sistem bom teflon tidak berbeda nyata, tetapi keduanya berbeda secara berarti dengan sistem refluks, yang dalam uji perolehan kembali (recovery) sistem refluks menunjukkan adanya galat sistematis. Tingkat akurasi prosedur analisis metode destruksi bom teflon – oven listrik diuji dengan bahan acuan tepung ikan *cod muscle* CRM No. 422 yang diperoleh dari *Community Bureau of Reference* (BCR). Kandungan raksa dalam bahan acuan dari percobaan tersebut ($0,593 \pm 0,036$) μ g/g tidak berbeda secara statistik dengan nilai pada sertifikat ($0,559 \pm 0,016$) μ g/g.

Kata kunci : Raksa, SSA uap dingin, destruksi, tepung ikan, bom-teflon

DETERMINATION OF MERCURY IN FISHMEAL USING COLD VAPOR ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY.

ABSTRACT

Determination of mercury in fishmeal by cold vapor atomic absorption spectrometry (CV-AAS) used three wet destruction methods has been executed. The three wet destruction methods are: reflux, teflon-bomb heated in electric oven and teflon-bomb heated in microwave oven. Four reaction vessels of mercury generator were tested: 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL and the volume of solutions to be measured were varied 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% from the volume of reaction vessel, respectively. The analytical performance for the 20% volume of standard mercury solution (20 mL) in the 100 mL vessel showed the best result compared to the others and provided detection limit 9.8 ng of mercury, sensitivity 0.868 A/ μ g, precision 5.9%, accuracy 5.3% and linear workin-range 10 – 25 ng mercury. Based on the precision test, the results indicated that the two teflon-bomb systems, oven and microwave, had the same performance, and significant different was observed for the digestion system with reflux, which revealed a systematic error. The accuracy of mercury determination using the proposed teflon-bomb – electric oven destruction method was checked using the No.422 cod muscle certified reference material of the Community Bureau of Reference (CRM-BCR). The experimental resulted (0.593 ± 0.03) ug/g, which indicated good agreement with the certified value (0.559 ± 0.016) ug/g.

Keywords: Mercury, Cold Vapor AAS, fishmeal, digestion, teflon-bomb.

PENDAHULUAN

Raksa adalah salah satu logam pencemar yang kadarnya dalam bahan makanan tidak melampaui batas standar kesehatan yang telah ditetapkan oleh WHO atau negara secara nasional oleh Dirjen POM yaitu maksimum 0,05 ppm. Metode analisis dalam penetapan kandungan raksa yang biasa digunakan ialah dengan teknik spektrometri serapan atom-uap dingin (SSA-UD). Kandungan raksa dalam contoh produk pangan umumnya sangat rendah, sehingga diperlukan suatu metode yang sangat peka dengan ketelitian yang tinggi. Menurut Zachariadis & Stratis, (1991), beberapa faktor yang dapat mempengaruhi penetapan raksa meliputi: faktor kimia, fisika – kimia, kecepatan alir gas pendorong, volume contoh, dan penyerap uap air. Selain kadarnya yang rendah, raksa mudah hilang ketika proses destruksi. Yang berakibat tidak tepat hasil yang diperoleh Dengan demikian metode destruksi merupakan salah satu faktor yang menentukan hasil akhir analisis (Woller, *et al.*, 1997). Cara destruksi contoh bahan makanan padat pada penetapan raksa biasanya dilakukan secara refluks. Kelemahan dari destruksi metode refluks adalah adanya kemungkinan

terkontaminasi oleh pencemar yang terdapat dalam pereaksi atau dari alat yang digunakan, selain kehilangan raksa yang mudah menguap.

Metode destruksi contoh yang dapat mencegah kehilangan analit dan kontaminasi serta dapat mempercepat proses destruksi adalah sistem bom teflon dengan pemanas *microwave* atau pemanas oven listrik (Magalhaes *et al.*, 1997; Matusiewicz, 1991; Okamoto & Fuwa, 1984; Kingston & Jassie, 1986).

Penelitian ini bertujuan mempelajari keunggulan serta kekurangan cara-cara destruksi, variabel yang dapat meningkatkan sensitivitas yang meliputi: besarnya volume bejana tempat proses reduksi dan volume larutan standar untuk pengukuran.

Kecermatan dan akurasi metode, dilakukan dengan menetapkan kandungan raksa dalam bahan acuan bersertifikat (CRMs 422).

BAHAN DAN METODE

Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian buatan dari E. Merck yang memenuhi syarat untuk analisi a.l.: asam nitrat 65%, asam sulfat 96%, hidroksil-amin klorida, asam klorida 37%, asam fluorida 40%, asam perklorat 60%, hidrogen peroksida 30%, vanadium pentaoksida, kalium permanganat 6%, timah(II) klorida, magnesium perklorat, raksa(II) klorida 99%.

Peralatan

Spektrofotometer absorpsi atom Shimadzu AA-6501S yang dilengkapi dengan generator raksa, sel absorpsi silinder dari bahan kuarsa diameter 15 mm dengan panjang 175 mm., bom teflon, oven listrik dan oven gelombang mikro merk Microwave Milestone MLS 1200.

Metodologi Penelitian :

1. Optimasi parameter pengukuran SAA-UD untuk penetapan raksa, dilanjutkan dengan optimasi sensitivitas pengukuran dengan variasi perbandingan volume bejana terhadap volume larutan standar raksa.
2. Destruksi basah dengan tiga cara dan pelarutan dilakukan untuk mendapatkan yang paling sesuai untuk penetapan raksa dalam contoh tepung ikan.
3. Uji validasi dengan mengitung kecermatan dan ketepatan metode SAA-UD penetapan raksa dan metode destruksi yang terbaik dengan bahan acuan bersertifikat yaitu CRMs 422.

Tahap I

Uji pengaruh volume bejana dan larutan

Larutan yang mengandung 125 ng raksa dengan volume bervariasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 60% dari bejana reduksi generator raksa dengan

volume: 50 mL, 100 mL, 250 mL, dan 500 mL dilakukan untuk mencari sensitivitas pengukuran yang terbaik. Volume larutan ukur yang mengandung jumlah raksa yang tertentu divariasikan sebagai persen volume total setiap ukuran bejana sebesar 10 %, 20 %, 30%, 40 %, 50% dan 60 %.

Tahap II

Destruksi dengan cara refluks:

Timbang dengan teliti ± 2 g contoh tepung ikan, masukkan ke dalam labu didih 250 mL yang dilengkapi kondensor air, tambahkan 20 mL campuran H_2SO_4 - HNO_3 (1:1) dan 20 mg V_2O_5 dan batu didih, hangatkan sekitar 40°C selama satu jam, kemudian panaskan hingga mendidih sampai didapat larutan jernih.

Destruksi dengan gelombang mikro:

Timbang dengan teliti maksimal $\pm 0,5$ g contoh tepung ikan ke dalam bom teflon, kemudian tambahkan 3 mL asam nitrat 65% dan 0,5 mL hidrogen peroksida 30%. Setelah tutup terpasang rapat, panaskan dalam oven gelombang mikro dengan kondisi program: (1) power 250 selama 5 menit, (2) power 0 selama 30 detik, (3) power 500 selama 5 menit dan (4) pendinginan selama 10 menit.

Destruksi dengan pemanas oven:

Timbang $\pm 0,3$ g contoh tepung ikan dengan teliti, masukkan ke dalam bom teflon, tambahkan 3 mL asam nitrat 65%. Setelah bom ditutup dengan rapat, panaskan dalam oven listrik pada suhu 90°C selama 2 jam, kemudian pada 140°C selama 4 jam.

Uji perolehan kembali:

Absorbans hasil destruksi larutan standar di plot terhadap absorbans larutan standar tanpa destruksi (Miller & Miller, 2000) dan menggunakan uji beda rata-rata secara berpasangan (Uji-t berpasangan). Kedua, standar raksa ditambahkan ke dalam contoh sebelum destruksi.

Tahap III

Validasi metode:

Metode SAA-UD untuk penetapan raksa dan metode destruksi yang memberikan kinerja analisis yang paling baik divalidasi dengan bahan acuan bersertifikat (CRMs 422).

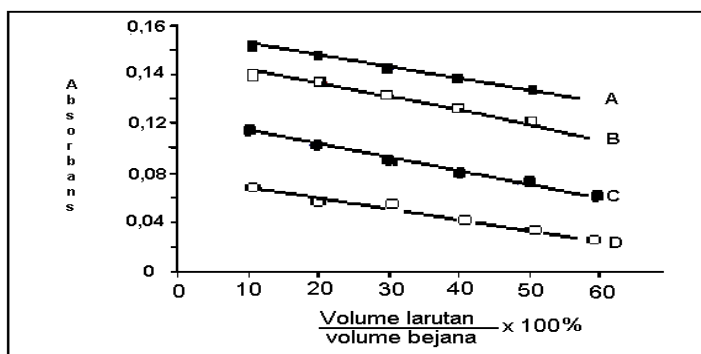
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi pengukuran raksa dengan SAA-UD:

Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan larutan standar raksa. Hasil pengukuran yang terbaik didapat untuk kondisi sebagai berikut: panjang gelombang 253,7 nm, lebar slit setara dengan 1,0 nm, kuat arus lampu katoda berongga sebesar 7 mA, aliran udara sebagai pembawa raksa dari bejana generator ke sel absorpsi dengan kecepatan 0,4 L/menit. Waktu optimal pengukuran proses reduksi 2 menit dengan menggunakan 1 mL larutan SnCl_2 10% sebagai reduktor.

Optimasi Untuk meningkatkan Sensitivitas

Variabel optimasi terdiri atas volume bejana proses reduksi dan volume larutan standar raksa. Respon yang dievaluasi adalah besarnya absorbans dari standar raksa. Grafik hubungan absorbans (y) dan volume larutan standar untuk pengukuran (x) pada masing-masing volume bejana reduksi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik absorbans standar raksa (125ng) terhadap perbandingan volume larutan dengan volume bejana reduksi; A: bejana 50 mL, B: bejana 100 mL, C: bejana 250 mL dan D: bejana 500 mL.

Pengaruh volume larutan ukur:

Dari grafik pada Gambar 1 terlihat bahwa semakin sedikit volume larutan untuk pengukuran pada setiap volume bejana makin meningkat pula absorbans yang teramati. Peningkatan sensitivitas ini terjadi akibat peningkatan jumlah uap atom raksa yang terbentuk pada satuan volume udara yang terdapat dalam bejana. sehingga lebih memungkinkan terjadi difusi yang spontan. Menurut Zachariadis & Stratis, (1991), jika aerasi uap atom raksa terjadi dengan spontan

menuju sel absorpsi maka atom-atom menjadi pekat pada aliran gas pendorong yang dapat meningkatkan angka absorbans. Peningkatan sensitivitas akibat difusi uap atom yang spontan juga dapat dilakukan dengan meningkatkan suhu proses reduksi (Carrilo, et al. 1984, 1986), karena suhu yang tinggi meningkatkan energi kinetik dan tekanan uap atom serta menurunkan kekentalan cairan. Disamping itu, kelarutan jenuh raksa tereduksi pada fasa cairan dan fasa udara mempengaruhi distribusi uap atom pada kedua fasa. Kelarutan raksa dalam air yaitu $6,0 \times 10^{-8}$ g/mL setara dengan 0,06 ppm. Volume pelarut raksa yang lebih kecil, dengan perkataan lain konsentrasinya lebih tinggi, meningkatkan respon absolut ($A/\mu\text{g}$) tetapi mengurangi respon konsentrasi (A/ppb) atau nilai absorbans (A) terhadap satuan konsentrasi raksa dalam ppb ($\mu\text{g/L}$) atau ppm (mg/L).

Pengaruh volume bejana reduksi.

Sensitivitas teknik SAA-UD pada penetapan raksa dapat ditingkatkan dengan mengurangi volume bejana reduksi. Penurunan sensitivitas pada volume bejana yang lebih besar disebabkan oleh peningkatan dispersi uap atom raksa dalam gas pendorong. Dalam fasa udara terjadi pengenceran uap atom raksa karena volume bejana yang besar. Zachariadis & Stratis, (1991) melaporkan bahwa kecepatan alir gas pendorong yang rendah meningkatkan absorbans karena dispersi uap atom raksa dalam aliran gas pendorong berkurang.

Penetapan Kadar Raksa Pada Contoh Tepung Ikan

Hasil penetapan kadar raksa dan parameter analisisnya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar raksa dalam tepung ikan dengan tiga metode destruksi.

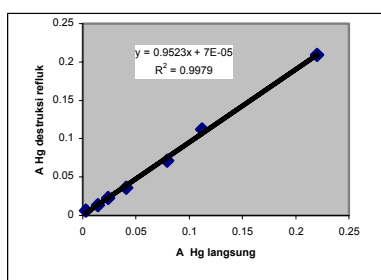
Parameter Analisis	Kadar raksa Tepung Ikan (ppm)		
	Refluks	Oven	Microwave
Rata-Rata	1,004	1,112	1,087
Sd	0,135	0,069	0,075
RSD(%)	13,5	6,2	6,9

Hasil uji secara statistik menunjukkan bahwa jumlah raksa dalam tepung ikan hasil destruksi sistem bomb teflon pemanas oven berbeda secara berarti dengan sistem refluks, tetapi dengan sistem gelombang mikro tidak berbeda secara berarti pada taraf kepercayaan 95 %. Berdasarkan hasil uji kecermatan antara destruksi dari ketiga metode, destruksi sistem bom teflon pemanas oven dan pemanas gelombang mikro tidak berbeda secara berarti tetapi keduanya berbeda nyata dengan destruksi secara refluks.

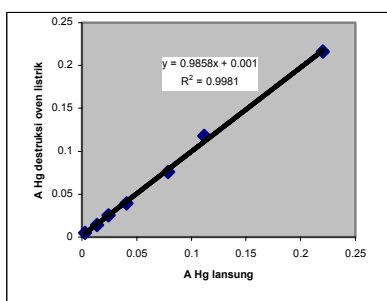
Perolehan Kembali

Penentuan kinerja analisis perolehan kembali ketiga metode destruksi dilakukan dengan cara membuat kurva hubungan antara absorbans (A) standar hasil destruksi (sumbu y) dengan absorbans standar yang tidak didestruksi (sumbu x) pada jumlah raksa absolut yang bersesuaian. Kurva hubungan absorbans dari ketiga metode destruksi terhadap standar raksa yang tidak didestruksi masing-masing disajikan pada gambar 2-4.

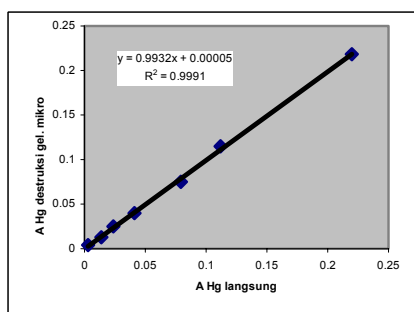
Jika tidak terjadi kesalahan sistematis atau kehilangan analit selama proses destruksi maka kemiringan kurva pada batas kepercayaan 95 % = 1 dan titik potong = 0, (Miller dan Miller, 2000). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa kemiringan kurva metode destruksi refluks mempunyai nilai dibawah satu sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat galat sistematis pada proses destruksi refluks yang menyebabkan kehilangan analit pada taraf kepercayaan 95 %.



Gambar 2 Kurva perolehan kembali destruksi secara refluks



Gambar 3. Kurva perolehan kembali destruksi pemanas oven



Gambar 4. Kurva perolehan kembali destruksi pemanas gel. mikro.

Hilangnya raksa selama proses pelarutan disebabkan sistem refluks yang terbuka. Sedangkan destruksi sistem *bom teflon* dengan pemanas oven dan pemanas *microwave* tidak ditemukan adanya galat sistematis yang menyebabkan kehilangan analit selama proses destruksi. Metode destruksi dengan sistem *bom*

teflon pemanas oven dan pemanas *microwave* adalah suatu sistem yang tertutup sehingga kehilangan analit yang mudah menguap selama proses pelarutan dapat dicegah. Dengan uji *t*-berpasangan menunjukkan hasil yang bersesuaian melalui uji regresi. Perolehan kembali metode refluks sangat rendah dibandingkan yang lain. Salah satu penyebab diduga akibat pembebasan gas-gas organik hasil destruksi seperti gas nitrogen dioksida yang membawa atom raksa, (Helrich, 1990). Metode *microwave* kemungkinan dapat terjadi kehilangan analit karena terbawa bersama gas-gas hasil destruksi yang keluar secara spontan dengan tekanan tinggi ketika *teflon* (wadah destruksi) dibuka. Hasil uji kecermatan, perolehan kembali menunjukkan hasil bahwa sistem bomb *teflon* lebih baik dan berbeda nyata dengan sistem refluks pada taraf kepercayaan 95%.

Validasi Metode

Metode destruksi sistem bomb *teflon* pemanas oven dengan pengukuran SAA-UD divalidasi menggunakan bahan acuan bersertifikat (CRMs 422) disajikan pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Data hasil penetapan raksa pada bahan acuan (CRM 422)

Bahan Acuan	Hasil Penetapan raksa (µg/g)				Nilai Sertifikasi (µg/g)	
	Rata-rata	Sd	RSD(%)	E(%)	Rata-rata	Sd
CRMs 422	0,593	0,038	6,4	6,1	0,559	0,016

Pada taraf kepercayaan 95 % diperoleh rentang pengukuran kadar raksa dengan persamaan $(\bar{x} \pm t_{\text{tabel}} Sd / \sqrt{n})$ dalam CRMs 422 dari 0,546 sampai 0,640.

KESIMPULAN

Dari percobaan pengaruh volume bejana dan larutan, sensitivitas pengukuran meningkat sekitar 75% apabila digunakan bejana 250 mL dibandingkan dengan bejana 500 mL, dan sekitar 67% dari apabila digunakan bejana 50 mL dibandingkan dengan bejana 250 mL. Volume larutan raksa untuk pengukuran yang lebih kecil dapat meningkatkan sensitivitas absolut raksa (A/ng), yang berarti sensitivitas akan menurun karena satuan konsentrasi raksa (A/ppb) meningkat.

Metode destruksi dalam bom *teflon* dengan oven listrik tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan sistem bom *teflon* dengan oven gelombang mikro, tetapi keduanya berbeda secara berarti dengan metode destruksi secara refluks, yaitu pada aspek kecermatan pada taraf kepercayaan 95 %. Kadar raksa rata-rata dalam tepung ikan hasil destruksi sistem bomb *teflon* berbeda nyata dengan

hasil destruksi secara refluks. Destruksi secara refluks terjadi kehilangan raksa secara berarti pada taraf kepercayaan 95%, sedangkan sistem bomb teflon tidak ditemukan adanya pengurangan raksa selama destruksi.

Dengan menggunakan bahan acuan bersertifikat, yaitu CRM 422, memperlihatkan metode destruksi basah dengan menggunakan bom teflon diikuti dengan pengurangan secara spektrometri serapan atom uap dingin memberikan hasil yang baik, yaitu $(0,593 \pm 0,036)$ ug/g yang memberikan penyimpangan sekitar 6% dari nilai sertifikat $(0,559 \pm 0,016)$ ug/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami ditujukan kepada staff laboratorium di Pusat Penelitian Kimia LIPI Bandung dan Lab. Kimia Program Pascasarjana Unpad yang telah membantu dalam melakukan percobaan dan pengukuran untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Carrillo, F., Bonilla, M. & Camara, C. 1986. Determination of Mercury in Biological Samples by A Sensitized Cold Vapor Atomic Absorption Technique. *Microchemical Journal*, **33**, 2 - 8.
- Carillo, F., Diez, P.L. & Camara, C. 1984. Sensitive Atomic Absorption Spectrophotometric of Mercury using a Heated Reaction Flask for Mercury Vapor Generation. *Analist*, **109**, 1171
- Caulcutt, R. & Boddy, P. 1983. *Statistics for Analytical Chemistry*, Chapman and Hall, London-New York.
- Helrich, K. (Ed.). 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, 15th ed., Erlington, Virginia USA.
- Kingston, H.M. & Jassie, L.B. 1986. Microwave energy for Acid Decomposition at Elevated Temperatures and Pressures using Biological and Botanical Samples. *Anal. Chem.*, **58**, pp2534 - 2541.
- Magalhaes, C.E.C., Francisco, J.K., Fostier, M.A. & Bernd, H. 1997. Direct Determination of Mercury in Sediments by Atomic Absorption Spectrometry. *J. Anal. Atomic Spectrom.*, **12**, 1231 -1234.
- Massart, D.L., Dijkstra, A. & Kaufman, L. 1980. *Evaluation and Optimization of Laboratory Methods and Analytical Procedures*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.

- Matusiewicz, H. 1991. Vapour-phase Acid Digestion of Inorganic and Organic Matrices for Element Analysis using Microwave Heated Bomb. *J. Anal. Atomic Spectrom.*, **6**, 283-287
- Miller, J.N. & Miller, J.C. 2000. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th, Prentice Hall, Pearson Education Ltd., Essex, England.
- Okamoto, K. & Fuwa, K. 1984. Low-Contamination Digestion Bomb Method using Teflon Double Vessel for Biological Materials. *Anal. Chem.*, **56**, 1758-1760.
- Woller, A., Garraud, H., Martin, F., Donard, X.F.O. & Fodor, P. 1997. Determination of Total Mercury in Sediments by Microwave-assisted Digestion-Flow Injection-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. Atomic Spectrom.*, **12**, 53 –56.
- Zachariadis, A.G. & Stratis, A.J. 1991. Optimization of Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometric Determination of Mercury with and without Amalgamation by Subsequent Use of Complete and Fractional Factorial Design with Univariate and Modified Simplex Methods. *J. Anal. Atomic Spectrom.*, **6**, 239-246.