

REVIEW: PERBANDINGAN METODE ANALISIS KADAR SELENIUM TOTAL DALAM SAMPEL SAYURAN

Deti Dewantisari, Nyi Mekar Saptarini
Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang km.21 Jatinangor 45363
detidewantisari@gmail.com

ABSTRAK

Kemampuan beberapa tanaman untuk mengakumulasi dan mengubah bentuk anorganik selenium menjadi senyawa organik bioaktif memiliki implikasi penting bagi gizi dan kesehatan manusia. Bawang putih dan bawang merah termasuk sayuran yang kaya dengan senyawa selenium. Perlakuan pengayaan selenium biasanya mengalami perubahan metabolisme tertentu yang menentukan produk akhir serta translokasi dan akumulasi dalam jaringan tanaman yang berbeda. Tujuan *literature review* ini adalah untuk membandingkan metode-metode analisis yang dapat digunakan dalam menganalisis kadar selenium total dalam sampel sayuran sehingga didapatkan metode yang paling baik yang diperoleh dari beberapa parameter kritis pengujian. Beberapa metode penentuan kadar selenium dalam tumbuhan telah dikembangkan mencakup spektrometri emisi plasma-optik induktif, kromatografi cair, kromatografi gas, dan fluoresensi atomik. Metode spektrometri emisi plasma-optik induktif rentan akan gangguan unsur besi (Fe) pada sampel. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) memungkinkan pemisahan pada material kolom pada tekanan tinggi hingga 10^8 Pa menggunakan diameter partikel $1,7\ \mu\text{m}$, yang dapat meningkatkan efisiensi, resolusi dan kecepatan pemisahan. Metode kromatografi gas dapat menganalisis selenium yang bersifat volatil. Metode fluoresens atomik yang didasarkan pada resonansi fluoresens memiliki batas deteksi hingga satuan ppb. Pemilihan metode pada akhirnya disesuaikan dengan jenis dan kadar selenium yang terkandung dalam sampel.

Kata Kunci: Fluoresens Atomik, Kromatografi, Sayuran, Selenium

ABSTRACT

The ability of some plants to accumulate and convert the inorganic form of selenium into bioactive organic compounds has important implications for human nutrition and health. Garlic and onions are vegetables which rich in selenium compounds. Selenium enrichment treatment usually undergoes certain metabolic changes that determine the final product as well as translocation and accumulation in different plant tissues. The purpose of this review literature is to compare the methods used in analyzing total selenium content in vegetable samples and to obtain the best method. Several methods of determining selenium levels in plants have been developed including inductive plasma-optic emission spectrometry, liquid chromatography, gas chromatography, and atomic fluorescence. The inductive plasma-optical emission spectrometry method is susceptible to iron (Fe) disruption in the sample. The High Performance Liquid Chromatography Method (HPLC) allows separation of column material at high pressures up to 10^8 Pa using a particle diameter of $1.7\ \mu\text{m}$, which can improve the efficiency, resolution and speed of separation. The gas chromatography method can analyze the volatile selenium. The atomic fluorescence method based on the fluorescence resonance has a limit ppb unit of. The chosen method is ultimately depend on the type and level of selenium contained in the sample.

Keywords: Atomic Fluorescence, Chromatography, Vegetables, Selenium

PENDAHULUAN

Selenium adalah elemen penting ditinjau dari aspek lingkungan dan biologis dalam rentang konsentrasi yang sangat sempit (Sager, 2006). Selenium telah terbukti berfungsi sebagai komponen integral dari beberapa enzim yang berbeda seperti glutasion peroksidase dan tioredoksin reduktase yang memiliki peranan dalam aktivitas antioksidan seluler (Birringer, *et al*, 2002). Beberapa bentuk organik selenium dapat menunjukkan aktivitas anti kanker terhadap beberapa jenis kanker seperti kanker prostat dan payudara (Shen, *et al.*, 2006).

Senyawa selenium utama yang terdapat dalam tumbuhan terdiri atas senyawa anorganik (selenit, Se (IV) dan selenat, Se (VI)), senyawa organik sederhana (metilsilenol, dimetilselenida, dietilselenida dan dimetilselenooksida), asam amino dan senyawa bermolekul rendah yang spesifik seperti selenometionin, selenosistein, selenosistin, selenohomosistin, Se-metilselenosistin, Se-metilselenometionin, Se -alilselenosistein, c-glutamyl-Se-metilselenosisteinat, Se-adenosilselenohomosistein, selenoglutasione, Se-propilselenosistein, dan senyawa lain seperti selenoprotein atau selenoenzim (Chassaigne, *et al.*, 2002).

Secara umum, jumlah Se yang dikonsumsi berhubungan langsung dengan jumlahnya yang ada di tanah (Banuelos, 2015; Zhao *et al*, 2005). Diet dengan kurang dari 0,1 µg Se per hari

menyebabkan defisiensi, sedangkan jika lebih dari 1 µg Se per hari menyebabkan toksisitas (Whanger, 2002). Berdasarkan perkiraan ini, asupan selenium harian untuk manusia yang bervariasi sesuai dengan negara atau wilayah, usia dan jenis kelamin telah direkomendasikan secara komprehensif (Rayman, 2012).

Kesadaran akan kekurangan gizi, misalnya kekurangan zat besi, yodium, vitamin A, dan seng, di negara berkembang sudah sangat tinggi, tetapi defisiensi mikronutrien jarang menjadi perhatian di negara maju. Defisiensi mikronutrien atau suplai suboptimal dari selenium mikronutrien esensial (Se) terjadi di beberapa Negara maju seperti Selandia Baru, Australia, Inggris, Jerman, dan Finlandia serta diperkirakan mempengaruhi kesehatan sekitar satu miliar orang di seluruh dunia (Alfthan, *et al.*, 2015).

Selenium adalah mikronutrien esensial, kekurangan asupannya memiliki konsekuensi langsung dan tidak langsung untuk kesehatan manusia. Gangguan langsung termasuk sistem kekebalan tubuh yang tidak stabil, hipotiroidisme dan kardiomiopati (Rayman, 2012). Gejala patologis berkembang sebagai konsekuensi dari asupan Se harian lebih dari 10 µg per hari. Secara tidak langsung, defisiensi Se menghasilkan hilangnya efek anti-kanker yang bersifat melindungi melalui pengurangan ekspresi selenoprotein antioksidan dan mengurangi ketersediaan

beberapa senyawa seleno (Whanger, 2004). Asupan Se yang dianjurkan dalam makanan adalah 55 µg per hari untuk manusia dewasa di AS, menurut National Institutes of Health, sedangkan di Eropa, asupan harian yang direkomendasikan adalah 70 µg per hari menurut Otoritas Keamanan Makanan Eropa (EFSA, 2014; NDA, 2014).

Manusia dan hewan biasanya memperoleh asupan selenium dari biji-bijian, dan sayuran yang ditanam di tanah, dan dari produk hewani seperti daging, susu, ikan, dan telur. Tanaman yang dapat mengakumulasi selenium (Se) meliputi *Allium sativum* (bawang putih), *A. cepa* (bawang merah), *A. fistulosum* (daun bawang), *Brassica juncea* (mustar), *Brassica oleracea* (kubis liar) (Quinn, et al., 2011).

POKOK BAHASAN

Beberapa metode analisis kadar selenium total dalam sampel sayuran telah dikembangkan secara instrumen. Metode penentuan kadar selenium total berguna untuk dapat menentukan jumlah sayuran yang harus dikonsumsi oleh manusia per harinya. *Literature review* ini bertujuan untuk membandingkan beberapa metode untuk menganalisis kadar selenium total dalam sayuran kemudian dibuat simpulan satu metode yang lebih baik ditinjau dari variabel dan parameter kritis pengujiannya.

Spektrometri Emisi Plasma-Optik Induktif

Spektrometri emisi plasma-optik induktif memberikan kuantifikasi dengan mengukur cahaya yang dipancarkan dari ion tereksitasi dan atom pada panjang gelombang yang khas. Ion dan atom yang tereksitasi terbentuk oleh reaksi sampel dalam plasma induktif-coupled (ICP) dan dideteksi oleh emisi atom. Untuk Se, batas deteksi relatif tinggi karena intensitas emisi Se yang rendah dibandingkan dengan elemen lain. Panjang gelombang deteksi utama untuk Se adalah 196,026 nm namun gangguan kecil dari unsur besi dalam sampel sehingga dapat menyulitkan analisis Se (Ralston, et al., 2008). ICP dapat juga digabungkan dengan analisis massa, biasanya menggunakan instrumen spektrometer massa quadropole (MS) (ICP-MS). Selain itu, sistem ICP-MS resolusi tinggi dapat digunakan untuk menganalisis Se-isotop. Aspek penting dalam ICP-MS adalah pertimbangan potensi gangguan dari unsur lain dan untuk meminimalkan bias yang disebabkan oleh argon, germanium, dan isotop kripton (Pettine, et al., 2015).

Kromatografi Cair

Kromatografi cair bekerja dalam mode yang berbeda dengan ICP-MS pada aspek (eksklusi ukuran, pertukaran ion dan fase-terbalik atau pasangan fase-fase-terbalik) sehingga memiliki keuntungan dalam melakukan pemisahan jenis

selenium *non-volatile* dan secara umum memiliki kesesuaian yang lebih baik daripada kromatografi gas, yang mungkin memerlukan langkah derivatisasi sebelum analisis dilakukan. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) memungkinkan pemisahan pada material kolom pada tekanan tinggi hingga 10^8 Pa menggunakan diameter partikel 1,7 μm , yang dapat meningkatkan efisiensi, resolusi dan kecepatan pemisahan (Bendahl, et al., 2005; Pyrzynska, 2009).

Kromatografi Gas

Penentuan jenis selenium yang mudah menguap melibatkan langkah pra-konsentrasi dengan penjerap kriogenik, diikuti oleh desorpsi termal atau ekstraksi menggunakan pelarut organik, sebelum pemisahan dengan kromatografi gas (Sturgeon, 2004). Mikroekstraksi fase padat diusulkan sebagai metode yang menarik untuk persiapan sampel yang kompatibel dengan kromatografi gas dan ICP-MS (Madrid-Albarrán, & Cámara, 2004).

Identifikasi Se didasarkan terutama pada perbandingan waktu retensi dengan standar senyawa dan/atau dengan metode penambahan standar. Namun, standar komersial tidak tersedia untuk semua *selenocompounds*. Masalah ini dapat dipecahkan oleh sintesis jenis Se yang diharapkan dapat ditemukan dalam sampel yang dianalisis atau dengan isolasi senyawa yang dimurnikan dari sampel

untuk identifikasi lebih lanjut dengan elektropray atau matriks spektroskopi ionisasi massa yang dibantu matriks (Połatajko, et al., 2006).

Fluoresensi Atomik

Metode ini didasarkan pada prinsip yang sama seperti spektrometri atom serapan, sehingga konstruksi instrumen analitiknya juga serupa. Radiasi yang berasal dari sumber yang kuat (lampu *electrodeless* EDL, laser) diserap oleh plasma yang dihasilkan oleh api atau penyemprot elektrotermal. Penyerapan menyebabkan eksitasi atom, yang memancarkan radiasi (fluoresensi). Panjang gelombang fluoresensi yang dipancarkan dapat sama dengan radiasi eksitasi (resonansi fluoresensi), lebih tinggi (transisi melalui keadaan menengah) atau lebih rendah (termolumines). Intensitas radiasi fluoresensi sebanding dengan konsentrasi atom dalam plasma, yang memungkinkan analisis kuantitatif (misalnya dengan perbandingan dengan kurva standar). Intensitas radiasi fluoresensi diukur pada sudut jalur radiasi eksitasi yang berasal dari sumber, yang menghilangkan efek dari radiasi eksitasi pada intensitas fluoresensi. Metode fluoresensi memungkinkan mencapai batas deteksi hingga satuan ppm-ppb (Niedzielski and Siepak, 2003).

SIMPULAN

Metode spektrometri emisi plasma-optik induktif memiliki batas deteksi yang cukup baik namun rentan akan gangguan unsur besi pada sampel. Metode KCKT memungkinkan pemisahan pada material kolom pada tekanan tinggi hingga 10^8 Pa menggunakan diameter partikel 1,7 μm , yang sehingga meningkatkan efisiensi, resolusi dan kecepatan pemisahan. Metode kromatografi gas dapat menganalisis Se yang bersifat volatil. Metode fluoresens atomik yang didasarkan pada resonansi fluoresens memiliki batas deteksi hingga satuan ppb. Pemilihan metode pada akhirnya disesuaikan dengan jenis dan kadar Se yang terkandung dalam sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rizky Abdullah, Ph.D., Apt selaku dosen mata kuliah Metodologi Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Albarran, Y. and Camara, C. 2004. Establishment of selenium uptake and species distribution in lupine, Indian mustard, and sunflower plants. *J. Agric. Food Chem*, 52: 832–838.
- Alfthan, G., Euroala, M., Ekholm, P., et al. 2015. Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in finland: from deficiency to optimal selenium status of the population. *J. Trace Elem. Med. Biol*, 31: 142–147.
- Banuelos, G. S., Arroyo, I., Pickering, I. J., et al. 2015. Selenium biofortification of broccoli and carrots grown in soil amended with Se-enriched hyperaccumulator *Stanleya pinnata*. *Food Chem*, 166: 603–608.
- Bendahl, L., Sturup, S., Gammelgaard, B., et al. 2005. UPLC-ICP-MS – A fast technique for speciation analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20: 1287–1289.
- Birringer, M., Pilawa, S., and Flohc, L. 2002. Trends in selenium biochemistry. *Natural Product Report*, 19: 693–718.
- Chassaigne, H., Chery, C. C., Bordin, G., et al. 2002. Development of new analytical methods for selenium speciation in selenium-enriched yeast material. *Journal of Chromatography A*, 976: 409–422.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). 2014. Scientific opinion on dietary reference values for selenium. *EFSA J*, 12: 3846.
- Niedzielski, P. and Siepak, M. 2003. Analytical Methods for Determining Arsenic, Antimony and Selenium in Environmental Samples. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(6): 653–667.
- Pettine, M., McDonald, T. J., Sohn, M., et al. 2015. A critical review of selenium analysis in natural water samples. *Trends Environ. Anal. Chem* 5:1–7.
- Połatajko, A., S'liwka-Kaszyn'ska, M., Dernovics, M., et al. 2004. A systematic approach to selenium speciation in selenized yeast. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19: 114–120.
- Pyrzynska, K. 2009. Selenium speciation in enriched vegetables. *Food Chemistry*, 114(2): 1183–1191.
- Quinn, C. F., Prins, C. N., Freeman, J.L., et al. 2011. Selenium accumulation in flowers and its effects on pollination. *New Phytologist*, 192(3): 727–737.
- Ralston, N. V., Unrine, J., and Wallschlager, D. 2008. *Biogeochemistry and Analysis of Selenium and Its*

- Species*. Washington DC: North American Metals Council.
- Rayman, M. P. 2012. Selenium and human health. *Lancet* 379:1256–1268
- Sager, M. 2006. Selenium in agriculture, food, nutrition. *Pure and Applied Chemistry*, 78: 111–133.
- Shen, S., Kengeri, S. S., Xu, H. P., et al. 2006. Selenium, DNA damage, and apoptosis: Defining the optimal selenium dose for prostate cancer prevention. *Environmental and Molecular Mutagenesi*, 47: 424–434.
- Sturgeon, R. E. 2004. Determination of methionine and selenomethionine in yeast by species-specific isotope dilution GC/MS. *Analytical Chemistry*, 76: 5149–5156.
- Whanger, P. D. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *J. Am. Coll. Nutr*, 21: 223–232.
- Whanger, P. 2004. Selenium and its relationship to cancer: an update. *Br. J. Nutr* 91:11–28.
- Zhao, C. Y., Ren, J. G., Xue, C. Z., et al. 2005. Study on the relationship between soil selenium and plant selenium uptake. *Plant Soil*, 277: 197–206.