

**EKSTRAKSI DAN PENGUKURAN SELENIUM PADA BEBERAPA SAMPEL
TANAH TROPIKA
(Laporan Penelitian)**

Ketua: Dr. Supriatin, S.P., M.Sc.

NIDN 0019127904

Anggota: Prof. Ir. Abdul Kadir Salam, M.Sc., Ph.D.

NIDN 0009116003

Prof. Ir. Jamalam Lumbanraja, M.Sc., Ph.D.

NIDN 0018035302

Ir. Hery Novpriansyah, M.Si.

NIDN 0015116602



**JURUSAN ILMU TANAH
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Ekstraksi dan Pengukuran Selenium pada Beberapa Sampel Tanah Tropika

Nama Rumpun Ilmu : Ilmu Tanah

Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : Dr. Supriatin, S.P., M.Sc.
- b. NIDN : 0019127904
- c. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- d. Program Studi : Ilmu Tanah
- e. No HP : 0812 790 68709
- f. Alamat email : supriatin_sp@yahoo.com

Anggota Peneliti

- a. Nama Lengkap : Prof. Ir. Abdul Kadir Salam, M.Sc., Ph.D.
- b. NIDN : 0009116003
- c. Program Studi : Ilmu Tanah

Anggota Peneliti

- a. Nama Lengkap : Prof. Ir. Jamalam Lumbanraja, M.Sc., Ph.D.
- b. NIDN : 0018035302
- c. Program Studi : Ilmu Tanah

Anggota Peneliti

- a. Nama Peneliti : Ir. Heri Novpriansyah, M.Si.
- b. NIDN : 0015116602
- c. Program Studi : Ilmu Tanah

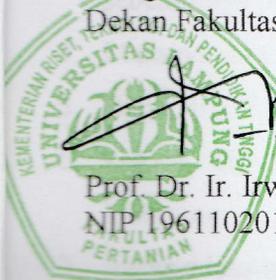
Lama Penelitian : 6 bulan

Biaya Penelitian : Rp. 7.500.000,-

Bandar Lampung, November 2018

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian,

Ketua Peneliti,



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si
NIP 196110201986031002

Dr. Supriatin, S.P., M.Sc.
NIP 197912192005012 001



Menyetujui,
Ketua LPPM Universitas Lampung,

Warsono, Ph.D
NIP 196302161987031003

IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian: Ekstraksi dan Pengukuran Selenium pada Beberapa Sampel Tanah Tropika
2. Tim Peneliti:

No.	Nama	Jabatan	Bidang keahlian	Program Studi	Alokasi waktu (jam/minggu)
1.	Dr. Supriatin, S.P., M.Sc.	Ketua	Kimia dan kesuburan tanah	Ilmu Tanah	8
2.	Prof. Ir. Abdul Kadir Salam, M.Sc., Ph.D.	Anggota	Kimia dan kesuburan tanah	Ilmu Tanah	8
3.	Prof. Ir. Jamalum Lumbanraja, M.Sc., Ph.D.	Anggota	Kimia dan kesuburan tanah	Ilmu Tanah	8
4.	Ir. Heri Novpriansyah, M.Si.	Anggota	Kimia dan Kesuburan Tanah	Ilmu Tanah	8

3. Objek penelitian: tiga sampel tanah yang diambil dari tiga lokasi di Propinsi Lampung, yaitu tanah Ultisol berpasir dari Kebun Percobaan Taman Bogo, Lampung Timur; tanah Ultisol berliat dari Gedung Meneng, Bandarlampung; dan tanah Andosol dari Gisting, Kabupaten Tanggamus akan digunakan dalam penelitian ini. Pengukuran Selenium (Se) dengan menggunakan larutan pengekstrak HNO_3 dan HCl (metode *200.7 Revisi 5.0 Environmental Protection Agency* (EPA)) dilakukan untuk mengetahui kandungan total Se pada sampel tanah. Jika Se yang diekstrak dengan larutan HNO_3 dan HCl tersebut terukur, kemudian dilakukan pengukuran Se di dalam sampel tanah yang diekstrak dengan menggunakan 0,01 M CaCl_2 untuk mengetahui kandungan Se tersedia pada sampel tanah. Analisis terhadap sifat dasar tanah, seperti pH tekstur, kandungan liat dan kandungan bahan organik telah dilakukan sebelumnya pada tahun 2017.
4. Masa pelaksanaan: Mulai: Juni 2017 dan berakhir: November 2017
5. Biaya: Rp. 7.500.000,-
6. Lokasi penelitian: Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.
7. Instansi lain yang terlibat: tidak ada
8. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu: Penelitian ini merupakan penelitian awal (*preliminary research*) yang bertujuan untuk menetapkan metode ekstraksi dan pengukuran total Se dan kandungan Se tersedia pada sampel tanah tropika. Hasil penelitian ini dapat digunakan lebih lanjut dalam penelitian yang melibatkan ekstraksi dan pengukuran Se tersedia dan total Se khususnya pada sampel tanah topika.

RINGKASAN

Selenium (Se) merupakan unsur hara esensial bagi hewan (ternak) dan manusia. Besarnya asupan Se pada hewan (ternak) dan manusia sangat ditentukan oleh kandungan Se di dalam tanaman pangan dan pakan yang dikonsumsi melalui rantai makanan, dan kandungan Se di dalam tanaman sangat ditentukan oleh ketersediaan Se di dalam tanah. Oleh karena itu, studi tentang kandungan dan ketersediaan Se di dalam tanah saat ini menjadi penting karena berkaitan dengan kualitas nutrisi pangan atau pakan, yang pada akhirnya akan menentukan nutrisi manusia dan hewan (ternak). Hingga saat ini studi tentang kandungan dan ketersediaan Se pada tanah-tanah pertanian tropika khususnya di Indonesia belum dilakukan secara intensif. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan metode ekstraksi dan pengukuran kandungan total Se dan Se-tersedia pada sampel tanah tropika. Kandungan total Se pada sampel tanah asal Propinsi Lampung ditentukan dengan metode 200.7 Revisi 5.0 dari *United States Environmental Protection Agency* (U.S. EPA) menggunakan HNO_3 dan HCl sebagai pengekstrak. Pengukuran Se pada masing-masing ekstrak tanah dilakukan dengan menggunakan Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan total Se di dalam sampel tanah Andosol asal Gisting yang diekstrak menggunakan $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ sangat tinggi, yaitu pada kisaran 11,63 – 36,35 mg/kg. Kandungan total Se tersebut melebihi kisaran total Se yang terkandung pada tanah-tanah di dunia, yaitu 0,03 – 2,0 mg/kg. Selain itu, kandungan total Se tersebut juga berada pada kisaran total Se untuk tanah-tanah dengan kandungan Se tinggi (*seleniferous soils*), yaitu 1 – 100 mg/kg. Hasil pengukuran total Se pada sampel tanah dalam penelitian ini tidak reliabel dikarenakan tingginya nilai standar deviasi dan keragaman dari pengukuran ulangan terhadap konsentrasi Se tersebut menggunakan ICP-OES. Selain itu, limit deteksi Se (87,63 $\mu\text{g/L}$ atau 4,38 mg/kg) dan limit determinasi Se (292,10 $\mu\text{g/L}$ atau 14,60 mg/kg) pada ekstrak tanah tersebut juga sangat tinggi. Tingginya keragaman, standar deviasi, limit deteksi dan limit determinasi pada ekstrak tanah tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya kontaminasi Se selama eksperimen berlangsung. Hal ini ditunjukkan oleh berlebihnya konsentrasi Se di dalam sampel tanah yang di-*spike* Se dibandingkan dengan konsentrasi yang seharusnya. Selanjutnya, pengukuran konsentrasi Se menggunakan ICP-OES tidak direkomendasikan karena kurang sensitifnya ICP-OES untuk mengukur elemen dengan konsentrasi < 100 $\mu\text{g/L}$.

I. PENDAHULUAN

Selenium (Se) merupakan unsur hara mikro esensial bagi manusia dan hewan (ternak), tetapi tidak esensial bagi tanaman. Di dalam tubuh manusia, Se yang ditemukan terutama dalam bentuk Selenoprotein, berperan sebagai komponen dari enzim antioksidan glutathione peroxidase dan sebagai katalis dalam produksi hormon thyroid (Rotruck *et al.*, 1973; Rayman, 2000, 2002). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Se memiliki manfaat bagi kesehatan manusia, antara lain meningkatkan sistem imun tubuh sehingga dapat mencegah infeksi virus, dibutuhkan untuk pematangan sperma, meningkatkan suasana hati/jiwa (*mood states*), dan menurunkan resiko penyakit jantung dan kanker (Rayman, 2002; Shin *et al.*, 2007; Kato *et al.*, 2010; Hatfield *et al.*, 2014). Bagi hewan (ternak), Se berperan untuk meningkatkan sistem imun, laju pertumbuhan dan kesuburan hewan (ternak) (Oldfield *et al.*, 1960; Wilson, 1964; Hidirolou, 1979; Harrison *et al.*, 1984).

Manusia dan hewan (ternak) memperoleh asupan Se yang berasal dari tanaman melalui rantai makanan, dalam bentuk tanaman pangan atau pakan. Di lain pihak, kandungan Se di dalam tanaman sangat tergantung pada ketersediaan Se di dalam tanah. Dengan demikian, kandungan dan ketersediaan Se di dalam tanah sangat menentukan kandungan Se yang masuk ke dalam suatu rantai makanan (tanaman, hewan (ternak) dan manusia). Oleh karena itu, studi tentang analisis dan pengukuran kandungan total dan ketersediaan Se di dalam tanah menjadi penting dan secara tidak langsung dapat digunakan untuk mengevaluasi kecukupan asupan Se pada tanaman, hewan (ternak) dan manusia.

Namun demikian, metode ekstraksi dan pengukuran ketersediaan dan total Se pada sampel tanah belum banyak dikembangkan di Indonesia karena masih belum intensifnya penelitian tentang Se pada tanah-tanah di Indonesia. Kandungan (total) dan ketersediaan Se khususnya pada tanah-tanah pertanian di Indonesia belum banyak diketahui dan dipelajari secara intensif. Hingga saat ini, Se di Indonesia masih dimasukkan ke dalam kelompok logam berat pencemar tanah dan air, dan belum dianggap sebagai bagian dari unsur hara/nutrisi di dalam tanah yang dibutuhkan terutama oleh hewan (ternak) dan manusia melalui konsumsi tanaman. Kandungan Se pada tanah atau air yang tercemar limbah logam berat Se secara umum lebih tinggi (dapat mencapai mg kg^{-1} atau mg L^{-1} atau ppm) dan lebih mudah terukur dibandingkan dengan kandungan alami Se pada tanah atau air ($\mu\text{g kg}^{-1}$ atau $\mu\text{g L}^{-1}$ atau ppb). Dengan demikian, analisis dan pengukuran Se pada sampel-sampel tanah alami menghadapi

tantangan terutama dalam hal kandungan Se yang sangat rendah di dalam tanah ($\mu\text{g kg}^{-1}$ atau $\mu\text{g L}^{-1}$ atau ppb). Hingga saat ini, hanya metode analisis kandungan total Se pada sampel tanah dengan menggunakan pengekstrak HNO_3 dan HClO_4 yang telah digunakan di Indonesia (Balai Penelitian Tanah, 2009).

Beberapa metode ekstraksi telah digunakan untuk menentukan kandungan total Se di dalam tanah, antara lain aqua regia (Keskinen *et al.*, 2009; Supriatin *et al.*, 2015b) dan HNO_3 plus HClO_4 (Balai Penelitian Tanah, 2009). Pengukuran Se di dalam larutan tanah (*soluble Se*), yang dianggap sebagai Se-tersedia, juga telah dilakukan dengan menggunakan beberapa metode ekstraksi yang menggunakan air (panas) atau larutan garam dengan konsentrasi rendah 0,01 M CaCl_2 , dan larutan penyangga fosfat dengan konsentrasi rendah 0,1 M $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (Yamada and Hattori, 1989; Johnsson, 1992; Keskinen *et al.*, 2009; Tolu *et al.*, 2011; Stroud *et al.*, 2012). Metode ekstraksi Se yang akan diuji dalam penelitian ini adalah metode HNO_3 plus HClO_4 untuk menentukan kandungan total Se di dalam tanah dan 0,01 M CaCl_2 untuk menentukan kandungan Se-tersedia di dalam tanah. Selain itu, pengukuran Se pada kedua ekstraksi tersebut akan diuji dengan menggunakan ICP-MS atau ICP-OES yang mampu mengukur konsentrasi rendah dalam kisaran $\mu\text{g L}^{-1}$ atau ppb.

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan metode standar ekstraksi dan pengukuran kandungan total Se dan Se-tersedia dalam bentuk Se-terlarut (*soluble Se*) pada sampel tanah tropika asal Indonesia. Melalui penelitian ini kita dapat mengetahui kadar total Se dan Se-terlarut pada beberapa sampel tanah tropika asal Indonesia dan untuk mengetahui apakah kadar total Se dan Se-terlarut pada sampel tanah tersebut dapat terukur dengan baik. Dalam penelitian ini akan digunakan tiga sampel tanah asal Lampung, Indonesia.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pentingnya Kandungan Selenium di dalam Tanah dan Hubungannya dengan Kesehatan Manusia dan Hewan

Kandungan total Selenium (Se) di dalam tanah di dunia berkisar antara 0,03 sampai 2,00 mg kg⁻¹, dengan rata-rata 0,40 mg kg⁻¹ (n = 1623) (Ure and Barrow (1982) dalam Yamada *et al.* (2009)). Namun, kandungan Se pada tanah-tanah seleniferous (tanah-tanah dengan kandungan Se tinggi) dapat cukup tinggi, yaitu 3,81 mg kg⁻¹ pada tanah-tanah yang terbentuk dari material karbonat di Provinsi Hubei, Cina (Tan *et al.*, 2002) dan hingga 4,91 mg kg⁻¹ pada tanah-tanah yang terbentuk dari sedimen yang kaya Se di Punjab, India (Dhillon and Dhillon, 2014). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan kisaran yang berbeda dari kandungan total Se di dalam tanah dalam hubungannya dengan potensi efek Se terhadap kesehatan tanaman, hewan (ternak) dan manusia, yang dikelompokkan menjadi kisaran defisiensi dan toksik. Berdasarkan hubungan antara kandungan total Se di dalam tanah dan penyakit defisiensi Se (penyakit Keshan dan penyakit Kashin-Beck) atau penyakit keracunan Se (selenosis) pada manusia di Cina, Tan *et al.* (2002) merekomendasikan bahwa kandungan total Se di dalam tanah < 0,125 mg kg⁻¹ dapat dikategorikan defisiensi, sedangkan kandungan total Se > 3,00 mg kg⁻¹ dikategorikan toksik. Selain itu, Gupta dan Winter (1975) menunjukkan bahwa kandungan total Se di dalam tanah < 0,60 mg kg⁻¹ berpotensi menghasilkan tanaman dengan kandungan Se yang tidak cukup bagi asupan hewan ternak. Selanjutnya, Allaway (1969) dalam Girling (1984) menunjukkan bahwa tanah dengan kandungan total Se < 0,04 mg kg⁻¹ dapat dikategorikan sebagai tanah dengan kandungan Se yang rendah sehingga dapat mengakibatkan defisiensi Se pada hewan ternak; tanah dengan kandungan total Se 0,5 sampai 5,0 mg kg⁻¹ dikategorikan sebagai tanah dengan kandungan Se sedang (*moderate*); dan tanah dengan kandungan total Se 1 sampai 100 mg kg⁻¹ dapat dikategorikan sebagai tanah dengan kandungan Se tinggi.

Kandungan total Se di dalam tanah ditentukan oleh bahan induk tanah dan proses pedogenik yang berlangsung pada tanah tersebut (White and Zasoski, 1999), yang lebih lanjut dapat menghasilkan tanah yang kaya Se atau kekurangan Se dan mempengaruhi kandungan Se di dalam rantai makanan yang terdapat di atas tanah tersebut (tanaman, hewan (ternak), manusia). Secara umum, kandungan Se di dalam batuan sedimen lebih tinggi dibandingkan batuan beku, kecuali batuan sedimen seperti sandstone dan limestone yang mengandung Se

yang relatif rendah (Fordyce, 2013). Lebih lanjut, tanah berliat cenderung memiliki kandungan Se yang lebih tinggi dibandingkan tanah berpasir karena adanya mineral biotit dan hidrooksida-Fe dan -Al pada tanah berliat yang dapat menjerap inorganik Se (selenate dan selenite) (Keskinen *et al.*, 2009; Ros *et al.*, 2014). Dalam kaitannya dengan proses pedogenik, tanah-tanah yang berkembang di daerah tropis dan subtropis secara umum memiliki kandungan Se yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanah-tanah di daerah kering (Tan *et al.*, 2002). Selain bahan induk tanah dan proses pedogenik, kandungan total Se di dalam tanah juga ditentukan oleh kandungan bahan organik tanah karena kecenderungan Se untuk berasosiasi dengan bahan organik.

2.2 Metode Penetapan Kandungan Total Selenium pada Sampel Tanah

Beberapa metode ekstraksi telah digunakan untuk menentukan kandungan total Se di dalam tanah. Metode tersebut sebagian besar merupakan metode adopsi untuk penentuan kandungan total elemen tertentu di dalam tanah atau material padat (*solid materials*) lainnya dengan menggunakan beberapa asam pekat dengan perbandingan tertentu. Metode tersebut meliputi destruksi menggunakan HNO₃ dan HCl (EPA, 2001; Keskinen *et al.*, 2009), destruksi menggunakan HNO₃, HClO₄ dan HF (Spackman *et al.*, 1994), destruksi menggunakan HNO₃ dan HClO₄ (Balai Penelitian Tanah, 2009; (Gao *et al.*, 2011), destruksi menggunakan HNO₃ dan HF (Imran *et al.*, 2016). Namun demikian, metode yang digunakan sebisa mungkin adalah yang menggunakan asam pekat yang lebih ramah lingkungan dan memperhatikan aspek keselamatan saat bekerja di laboratorium, namun tetap dapat memberikan informasi kandungan total Se di dalam sampel tanah yang valid. Oleh karena itu, saat ini metode destruksi untuk penentuan kandungan total elemen di dalam tanah menggunakan asam yang lebih ramah lingkungan dan tidak keras, seperti HNO₃ dan HCl.

2.3 Ketersediaan Selenium di dalam Tanah dan Metode Ekstraksinya

Selain ditentukan oleh kandungan total Se di dalam tanah itu sendiri, kandungan Se di dalam tanaman, dan secara tidak langsung di dalam hewan (ternak) dan manusia, ditentukan secara spesifik oleh ketersediaan Se di dalam tanah. Selenium tersedia di dalam tanah merupakan fraksi dari total Se yang terlarut (*soluble Se*) di dalam larutan tanah dalam bentuk inorganik Se, seperti selenate dan selenite dan organik Se yang terlarut (*soluble organic Se*), seperti selenomethionine dan selenocystine (Abrams *et al.*, 1990; Williams and Mayland, 1992;

Zayed *et al.*, 1998; Hopper and Parker, 1999; Li *et al.*, 2008; Kikkert and Berkelaar, 2013). Selenate dan selenite dapat terjerap pada permukaan koloid tanah dan dapat terinkorporasi ke dalam bahan organik tanah setelah proses reduksi. Namun, selenate bersifat lebih mobil dan tidak mudah terjerap oleh permukaan koloid tanah dibandingkan selenite sehingga lebih mudah tersedia bagi tanaman.

Ekstraksi tanah menggunakan air atau larutan elektrolit lemah, yang dikombinasikan dengan analisis spesies kimia Se (*chemical speciation analysis*), telah digunakan untuk menentukan tingkat ketersediaan Se di dalam tanah. Hasil penelitian Weng *et al.* (2011) menunjukkan bahwa organik Se dan S yang terekstrak oleh 0,01 M CaCl₂ dapat dijadikan sebagai indikator Se tersedia pada tanah padang rumput dengan kandungan Se yang rendah. Selanjutnya, hasil penelitian Stroud *et al.* (2010) menunjukkan bahwa S dan Se yang terekstrak oleh 0,016 M KH₂PO₄ dan total Se di dalam tanah dapat mendeskripsikan Se yang terserap oleh biji tanaman gandum yang tumbuh pada tanah dengan kandungan Se yang rendah. Hasil penelitian Zhao *et al.* (2005) menunjukkan bahwa Se yang terekstrak oleh 0,1 M KH₂PO₄ berkorelasi tinggi dengan serapan Se oleh tanaman teh yang tumbuh pada tanah dengan kandungan Se tinggi (*seleniferous soil*). Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa metode ekstraksi Se tersedia di dalam tanah yang berbeda dapat memberikan parameter ketersediaan Se yang berbeda juga, yang secara tidak langsung menggambarkan perbedaan faktor-faktor yang mempengaruhi ketersediaan Se di dalam tanah.

2.4 Pengukuran Selenium pada Ekstrak Tanah

Karena kandungan Se pada sampel tanah alami secara umum sangat rendah, yaitu pada level $\mu\text{g kg}^{-1}$ atau $\mu\text{g L}^{-1}$ atau ppb, maka pengukuran Se pada ekstrak tanah dilakukan dengan menggunakan *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (ICP-MS) atau *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (ICP-OES). Namun demikian, perlu adanya standarisasi metode pengukuran Se pada masing-masing ekstrak tanah dengan menggunakan ICP-MS atau ICP-OES tersebut. Hingga kini metode pengukuran Se pada ekstrak tanah belum dipelajari dan dikembangkan secara intensif di laboratorium-laboratorium di Indonesia karena belum intensifnya penelitian tentang Se pada tanah-tanah di Indonesia.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Sampel Tanah

Sampel tanah yang akan digunakan dalam penelitian ini diambil dari tiga lokasi di Propinsi Lampung, yaitu Kebun Percobaan Taman Bogo, Kabupaten Lampung Timur (tipe tanah Ultisol berpasir); Gedung Meneng, Bandar Lampung (tipe tanah Ultisol berliat); dan Gisting, Kabupaten Tanggamus (tipe tanah Andosol) pada tahun 2017. Contoh tanah lapisan atas (*top soil* 0 – 20 cm) diambil dengan menggunakan metode pengambilan sampel tanah *bulk* dimana sampel tanah diambil pada satu titik pada suatu bidang lahan. Lahan tempat pengambilan sampel tanah adalah lahan dengan vegetasi yang masih alami (lahan yang tidak pernah dipakai untuk kegiatan budidaya tanaman pertanian). Tujuan pengambilan sampel tanah pada satu titik pada suatu bidang lahan adalah untuk mendapatkan sampel tanah yang relatif homogen dari suatu bidang lahan sehingga meminimalkan keragaman hasil analisis sifat (kimia) tanah di laboratorium. Selanjutnya, masing-masing sampel tanah tersebut diaduk hingga merata atau homogen.

3.2 Persiapan Sampel Tanah untuk Analisis

Setelah diambil dari lapang, sampel tanah akan dibersihkan dari sisa-sisa tanaman, akar tanaman dan batuan kerikil. Setelah itu, sampel tanah akan dikering-udarkan pada suhu ruangan (Sheppard and Addison, 2008). Temperatur pengeringan, lama pengeringan dan ketebalan lapisan sampel tanah selama pengeringan harus dipertimbangkan untuk meminimalkan perubahan karakteristik fisik dan kimia dari sampel tanah setelah pengeringan (Van Dijk and Houba, 2000). Setelah pengeringan, sampel tanah akan dihaluskan dengan menggunakan tumbukan dari kayu dan selanjutnya akan diayak menggunakan ayakan tanah 2 mm. Setelah penghalusan, kemudian sampel tanah akan diaduk hingga merata untuk mendapatkan sampel yang homogen. Setelah itu, sampel tanah siap dianalisis.

3.3 Penetapan Total Selenium di dalam Tanah

Penetapan total Se di dalam sampel tanah (*solid sample*) dilakukan dengan menggunakan Metode 200.7 Revisi 5.0 yang diadopsi dari *United States Environmental Protection Agency* (2001). Penetapan total Se di dalam sampel tanah dilakukan dengan menggunakan rasio

tanah dan larutan pengestrak yang berbeda yaitu rasio tanah: 1:14 (1 g sampel tanah dan 14 mL HNO₃ + HCl) dan 3:14 (3 g sampel tanah dan 14 mL HNO₃ + HCl). Sekitar 1,0 ± 0,01 g atau 3,0 ± 0,01 g sampel tanah kering dimasukkan ke dalam labu *heavy metal digester* dan ditambahkan 4 mL HNO₃ yang dilarutkan dalam *ultrapure water* (rasio HNO₃:*ultrapure water* 1:1) dan 10 mL HCl yang dilarutkan dalam *ultrapure water* (rasio HCl:*ultrapure water* 1:4). Kemudian, susun labu yang berisi sampel pada rak *heating block*, kemudian sampel dipanaskan pada suhu 95°C selama 30 menit untuk proses ekstraksi dan refluks. Proses pemanasan dan refluks harus dilakukan di ruang asam (*fume hood*). Sedikit pendidihan larutan suspensi akan terjadi, namun pendidihan yang intensif harus dihindari untuk mencegah hilangnya HCl-H₂O melalui penguapan. Pada saat pemanasan juga akan terjadi evaporasi larutan sebesar 3 – 4 mL. Setelah pemanasan sampel selesai, dinginkan suspensi sampel dan saring suspensi sampel dengan menggunakan kertas saring Whatman 41 ke dalam 50 mL labu ukur (*volumetric flask*). Kemudian encerkan sampel dengan menggunakan *ultrapure water* hingga volume labu ukur (50 mL), tutup labu ukur dan aduk sampel hingga merata. Namun demikian, perlu perhatian agar tidak terjadi kontaminasi yang berasal dari proses penyaringan. Kemudian pengukuran Se pada ekstrak larutan sampel dilakukan dengan menggunakan *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (ICP-OES). Pengukuran Se pada ekstrak sampel sebaiknya dilakukan segera setelah proses ekstraksi. Semua larutan yang digunakan dalam ekstraksi ini dibuat dengan menggunakan *ultrapure water* dengan ketahanan konduktivitas listrik (*electric conductivity resistance*) 18,2 mΩ.

3.4 Penetapan Selenium Tersedia di dalam Tanah

Kandungan Se-tersedia dalam bentuk Se-terlarut (*soluble-Se*) pada sampel tanah akan ditentukan dengan mengekstraksi sampel tanah dengan menggunakan larutan 0,01 M CaCl₂. Metode ini diadopsi dari metode yang diajukan oleh Houba *et al.* (2000) untuk penetapan unsur hara tersedia di dalam sampel tanah. Metode ini sebelumnya telah digunakan untuk menentukan Se-tersedia pada tanah-tanah pertanian asal Belanda ((Weng *et al.*, 2011; Supriatin *et al.*, 2015a; Supriatin *et al.*, 2015b). Sekitar 3,0 g sampel tanah kering udara dimasukkan ke dalam botol pengocok 50 mL. Kemudian sekitar 30 mL larutan 0,01 M CaCl₂ dimasukkan ke dalam botol pengocok yang berisi sampel tanah tersebut. Setelah itu, suspensi tanah dikocok selama 120 menit dengan menggunakan mesin pegocok horizontal pada suhu ruangan konstan 20 ± 1°C. Setelah pengocokan, pH dari masing-masing suspensi sampel tanah diukur, dan kemudian suspensi tanah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10

menit, dan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman dengan ukuran pori 0,45 μm . Kandungan Se-terlarut di dalam filtrat diukur dengan menggunakan ICP-OES setelah filtrat diasamkan dengan menggunakan HNO_3 dengan konsentrasi akhir 0,14 M. Semua larutan yang digunakan dalam ekstraksi ini dibuat dengan menggunakan *ultrapure water* dengan ketahanan konduktivitas listrik (*electric conductivity resistance*) 18,2 $\text{m}\Omega$.

3.5 Penetapan Sifat Dasar Tanah

Sifat tanah dasar berupa pH tanah (pH H_2O , metode elektrode gelas), kandungan bahan organik tanah (metode *Walkey and Black*), tekstur tanah (metode pipet), kandungan liat (metode pipet), dan kapasitas tukar kation tanah (metode ammonium asetat 1M pH 7) telah ditentukan pada penelitian sebelumnya.

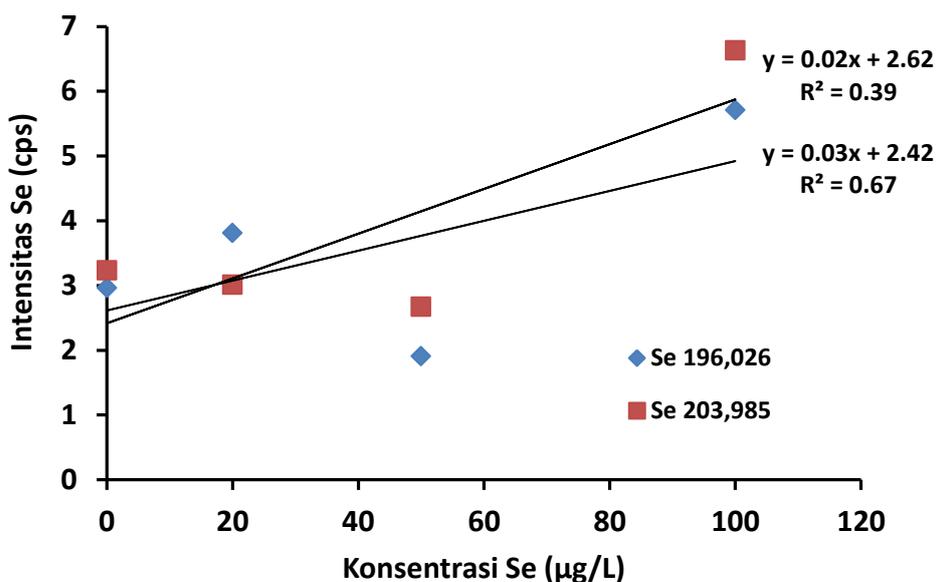
3.6 Pengontrolan Kualitas (*Quality Control*) Pengukuran Selenium pada Ekstrak Tanah

Pengontrolan kualitas pengukuran Se pada masing-masing ekstrak tanah dilakukan dengan menentukan limit deteksi (*detection limit*) dan limit pengukuran (*determination limit*) Se untuk masing-masing metode ekstraksi dengan menggunakan konsentrasi Se yang terukur pada sampel larutan blanko (larutan tanpa sampel tanah). Limit deteksi dihitung 3 x standar deviasi pengukuran Se pada larutan blanko dan limit pengukuran dihitung 3,3 x limit deteksi. Jumlah sampel larutan blanko yang digunakan untuk menentukan limit deteksi dan limit pengukuran adalah 5 untuk masing-masing metode ekstraksi. Kemudian, konsentrasi Se yang terukur pada sampel tanah pada masing-masing metode ekstraksi dibandingkan dengan limit deteksi dan limit pengukuran yang diperoleh untuk masing-masing metode ekstraksi.

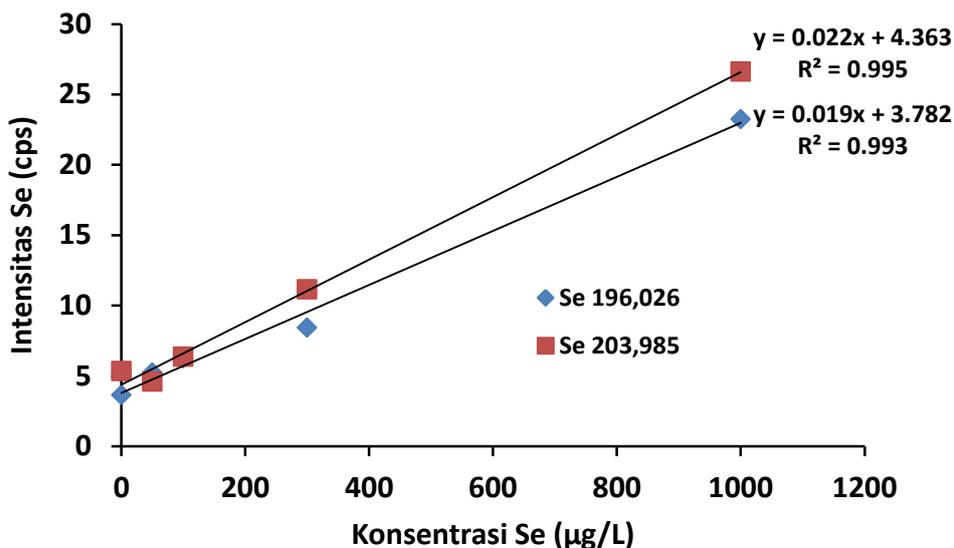
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengukuran Selenium pada Larutan Standar

Sebelum dilakukan pengukuran kandungan total Se pada sampel tanah yang diekstrak dengan menggunakan $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ (metode 200.7 Revisi 5.0 EPA), dilakukan analisis terhadap larutan standar Se yang dibuat dalam matriks larutan HNO_3 1% untuk mengetahui apakah Se dapat terukur dengan baik oleh *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (ICP-OES). Pengukuran Se pada ICP-OES dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang 196,026 nm dan 203,985 nm (Gambar 1, 2 dan Tabel 1). Panjang gelombang yang umum dipakai dalam pengukuran Se dengan menggunakan ICP-OES adalah 196,022 nm (Sarojam, 2010).



Gambar 1. Pengukuran Se pada larutan standar dengan konsentrasi 0; 20; 50 dan 100 µg/L.



Gambar 2. Pengukuran Se pada larutan standar dengan konsentrasi 0; 50; 100; 300 dan 1000 µg/L.

Hasil pengukuran Se pada larutan standar menunjukkan bahwa pengukuran Se pada konsentrasi rendah ($< 100 \mu\text{g/L}$) memberikan hasil yang tidak optimal dengan nilai koefisien determinasi/*coefficient of determination* (R^2) yang rendah, yaitu 0,39 (pada panjang gelombang 196,026 nm) dan 0,67 (pada panjang gelombang 203,985 nm) (Gambar 1). Sebaliknya, pengukuran konsentrasi Se pada larutan standar yang menyertakan konsentrasi Se $> 100 \mu\text{g/L}$ menunjukkan hasil pengukuran konsentrasi Se yang lebih optimal dengan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,995 (pada panjang gelombang 203,985 nm) dan 0,993 (pada panjang gelombang 196,026 nm). Selain itu, hasil pengukuran Se pada larutan standar dengan konsentrasi $< 100 \mu\text{g/L}$ cenderung tidak dapat memberikan hasil pengukuran yang akurat, dan sebaliknya hasil pengukuran Se pada larutan standar dengan konsentrasi $> 100 \mu\text{g/L}$ menunjukkan hasil yang lebih akurat terutama pada pengukuran dengan menggunakan panjang gelombang 203,985 nm (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa pengukuran konsentrasi Se dengan menggunakan ICP-OES akan akurat jika konsentrasi Se di dalam sampel $> 100 \mu\text{g/L}$, terutama pada panjang gelombang 203,985 nm. ICP-OES termasuk alat yang kurang sensitif untuk mengukur elemen dengan konsentrasi sangat rendah, yaitu $< 100 \mu\text{g/L}$. Selain itu, hasil pengukuran konsentrasi Se yang fluktuatif pada larutan standar $< 100 \mu\text{g/L}$ menunjukkan bahwa intensitas Se yang terukur oleh ICP-OES pada rentang konsentrasi 0 - 100 µg Se/L tidak optimal (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1. Konsentrasi Se yang terukur dalam larutan standar Se dengan matriks larutan HNO₃ 1%.

Larutan standar Se (µg/L)	Hasil pengukuran konsentrasi Se dengan ICP-OES (µg/L)	
	λ = 196,026 nm	λ = 203,985 nm
0	17,04	27,06
20	59,56	19,67
50	-35,72	8,47
100	154,47	140,41
0	-8,25	43,82
50	76,08	10,20
100	129,26	90,74
300	243,98	308,16
1000	1024,11	1011,35

4.2 Ekstraksi dan Pengukuran Total Selenium di dalam Sampel Tanah

Kandungan total Selenium (Se) di dalam tanah ditentukan dengan metode 200.7 Revisi 5.0 yang diadopsi dari *United States Environmental Protection Agency* (2001). Dalam penelitian ini, selain menggunakan rasio tanah:larutan pengekstrak standar sesuai dengan prosedur yang tercantum dalam metode 200.7 Revisi 5.0 EPA (rasio tanah:larutan pengekstrak 1:14), juga digunakan rasio tanah:larutan pengekstrak yang dimodifikasi yaitu 3:14. Selain itu, volume akhir dari larutan sampel yang semula 100 mL dimodifikasi menjadi 50 mL, baik untuk tanah yang diekstrak dengan rasio tanah:larutan pengekstrak 1:14 dan 3:14. Modifikasi yang dilakukan terhadap metode 200.7 Revisi 5.0 EPA tersebut dilakukan dengan tujuan agar Se yang terekstrak dari sampel tanah memungkinkan terukur dengan menggunakan *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (ICP-OES). Perhitungan konsentrasi Se yang terukur di dalam sampel tanah menggunakan persamaan yang diperoleh dari hasil pengukuran larutan standar dengan konsentrasi 0; 50; 100; 300 dan 1000 µg/L pada panjang gelombang 203,985 nm (Gambar 2).

Kandungan total Se yang terukur pada sampel tanah Andosol asal Gisting adalah $11,63 \pm 4,44$ mg/kg (rasio tanah:larutan pengekstrak 1:14) dan $36,35 \pm 10,64$ mg/kg (rasio tanah:larutan pengekstrak 3:14). Kandungan total Se pada sampel tanah yang terukur dalam penelitian ini sangat tinggi dibandingkan dengan kandungan total Se pada tanah-tanah di dunia, yaitu pada kisaran 0,03 mg/kg sampai dengan 2,0 mg/kg, dengan rata-rata 0,40 mg/kg ($n = 1623$) (Ure dan Berrow (1982) dalam Yamada *et al.* (2009)). Selain itu, kandungan total Se yang terukur pada sampel tanah dalam penelitian ini melebihi kandungan total Se yang terukur pada tanah-tanah dengan kandungan Se yang tinggi (*seleniferous soils*). Kandungan total Se pada *seleniferous soils* di Enshi, Provinsi Hubei, Cina adalah 3,81 mg/kg (Tan *et al.*, 2002); dan 4,91 mg/kg pada tanah di Punjab, India yang terbentuk dari sedimen yang kaya Se (Dhillon and Dhillon, 2014). Selanjutnya, Tan *et al.* (2002) menyatakan bahwa tanah dengan kandungan total Se $> 3,0$ mg/kg termasuk tanah toksik Se, dan Alloway (1969) dalam Girling (1984) menyatakan bahwa tanah dengan kandungan total Se 1 mg/kg sampai dengan 100 mg/kg termasuk tanah dengan kandungan Se tinggi (*seleniferous soils*).

Tingginya konsentrasi Se yang terukur pada ekstrak tanah dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh kontaminan Se yang berasal dari alat gelas selama eksperimen atau kontaminan Se yang berasal dari proses ekstraksi dan refluks menggunakan *heavy metal digester*. Hal ini ditunjang oleh tingginya konsentrasi Se yang terukur pada sampel tanah yang di-*spike* dengan 20 $\mu\text{g/L}$ (Tabel 3). Konsentrasi rata-rata Se yang terukur pada sampel tanah yang tidak di-*spike* adalah 232,52 $\mu\text{g/L}$ (rasio tanah:larutan pengekstrak 1:14) dan 727,02 $\mu\text{g/L}$ (rasio tanah:larutan pengekstrak 3:14). Setelah sampel tanah ditambahkan *spike* Se 20 $\mu\text{g/L}$, konsentrasi yang terukur pada sampel tanah jauh lebih tinggi dari yang seharusnya, yaitu masing-masing menjadi 301,65 $\mu\text{g/L}$ dan 852,70 $\mu\text{g/L}$. Selain itu, adanya kontaminasi juga ditunjukkan oleh tingginya standar deviasi dari pengukuran ulangan, yaitu 88,78 $\mu\text{g/L}$ (rasio tanah:larutan pengekstrak 1:14) dan 212,84 $\mu\text{g/L}$ (rasio tanah:larutan pengekstrak 3:14).

Selanjutnya, standar deviasi (4,44 mg/kg dan 10,64 mg/kg) dan koefisien keragaman (38% dan 29%) dari ulangan pengukuran kandungan total Se juga relatif tinggi (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa hasil pengukuran total Se pada ekstrak tanah $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ dengan menggunakan ICP-OES memiliki keragaman yang tinggi antar ulangan. Berbeda dengan kandungan total Se (0,12 - 1,97 mg/kg; rata-rata 0,67 mg/kg) pada sampel tanah pertanian di Belanda yang diekstrak dengan menggunakan larutan aqua regia ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) dengan

metode *close microwave digestion* dan diukur dengan menggunakan *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (ICP-MS) memiliki keragaman yang rendah antar ulangan dengan koefisien keragaman < 10% (Supriatin *et al.*, 2015b). Tingginya keragaman dan standar deviasi tersebut kemungkinan akibat adanya kontaminasi Se yang berasal dari luar sampel seperti dijelaskan di atas.

Tabel 2. Konsentrasi Se pada sampel tanah Andosol asal Gisting yang diekstrak dengan HNO₃ + HCl (metode 200.7 Revisi 5.0 EPA).

Sampel	Konsentrasi Se (mg/kg)		Rataan ± SD (mg/kg)		Koefisien keragaman (%)	
	SSR 1:14	SSR 3:14	SSR 1:14	SSR 3:14	SSR 1:14	SSR 3:14
Gisting U1	7,76	28,02	11,63 ± 4,44	36,35 ± 10,64	38,18	29,28
Gisting U2	16,48	48,34				
Gisting U3	10,64	32,69				
Spike Gisting U1	15,20	44,31	15,08 ± 0,16	42,63 ± 2,37	1,09	5,56
Spike Gisting U2	14,97	40,96				

Catatan: U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2, U3 = ulangan 3, dan seterusnya. SD = standar deviasi. SSR = *soil:solution ratio* = rasio tanah:larutan pengekstrak. Spike Gisting: sampel yang ditambahkan 20 µg Se/L.

Tabel 3. Konsentrasi Se yang terukur pada larutan blanko dan sampel tanah dalam µg/L.

Sampel	Konsentrasi Se (µg/L)		Rataan ± SD (µg/L)	
	SSR 1:14	SSR 3:14	SSR 1:14	SSR 3:14
Blanko U1	-82,34			
Blanko U2	-24,63	-49,10		
Blanko U3	-8,29	-5,53		
Gisting U1	155,25	560,40	232,52 ± 88,78	727,02 ± 212,84
Gisting U2	329,50	966,79		
Gisting U3	212,82	653,86		
Spike Gisting U1	303,99	886,20	301,65 ± 3,30	852,70 ± 47,37
Spike Gisting U2	299,32	819,20		

Catatan: U1 = ulangan 1; U2 = ulangan 2, U3 = ulangan 3, dan seterusnya. SD = standar deviasi. SSR = *soil:solution ratio* = rasio tanah:larutan pengekstrak. Spike Gisting: sampel yang ditambahkan 20 µg Se/L.

4.3 Reliabilitas Data Hasil Pengukuran

Selain melihat dari nilai standar deviasi dan keragaman pada pengukuran ulangan, reliabilitas data hasil pengukuran Se pada matriks larutan $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ menggunakan ICP-OES juga dievaluasi berdasarkan limit deteksi dan limit determinasi (pengukuran) Se pada ekstrak tanah tersebut. Berdasarkan konsentrasi Se pada larutan blanko (Tabel 3) diketahui bahwa limit deteksi Se untuk ekstrak tanah $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ yang diukur dengan ICP-OES adalah 87,63 $\mu\text{g/L}$ atau 4,38 mg/kg dan limit determinasi adalah 292,10 $\mu\text{g/L}$ atau 14,60 mg/kg. Berdasarkan nilai limit determinasi Se pada ekstrak tanah tersebut diketahui bahwa konsentrasi Se pada ekstrak tanah dengan rasio tanah:larutan pengeksrak 1:14 berada di bawah limit determinasi, kecuali Se yang terukur pada spike sampel tanah dan Gisting U2 (Tabel 2 dan 3) . Sebaliknya, konsentrasi Se pada ekstrak tanah dengan rasio tanah:larutan pengeksrak 3:14 lebih tinggi dari limit determinasi. Hasil penelitian saat ini menunjukkan bahwa konsentrasi Se pada ekstrak tanah $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ dapat dikatakan terukur jika rasio tanah:larutan pengeksrak yang digunakan adalah 3:14. Namun demikian, perlu validasi lebih lanjut mengenai hasil tersebut karena adanya kemungkinan kontaminasi Se pada sampel dan tidak reliabelnya pengukuran Se dengan menggunakan ICP-OES. Sebagai pembandingan, kisaran limit determinasi untuk Se pada sampel tanah pertanian asal Belanda yang dieksrak menggunakan aqua regia ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) dan diukur menggunakan ICP-MS adalah 69,94 – 261,96 $\mu\text{g/kg}$ atau 0,07 – 0,26 mg/kg (Supriatin et al., 2015). Limit determinasi tersebut jauh berada di bawah limit deteksi Se yang terukur dalam ekstrak tanah dengan matriks larutan pengeksrak yang sama ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) dalam penelitian ini. Berdasarkan hasil tersebut, pada penelitian ini kami tidak melakukan pengukuran Se tersedia pada ekstrak tanah 0,01 M CaCl_2 karena rendahnya konsentrasi Se pada ekstrak tanah tersebut sehingga tidak memungkinkan melakukan pengukuran Se dengan menggunakan ICP-OES.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kandungan total Se di dalam sampel tanah Andosol asal Gisting yang diekstrak menggunakan $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ sangat tinggi, yaitu pada kisaran 11,63 – 36,35 mg/kg. Kandungan total Se tersebut melebihi kisaran total Se yang terkandung pada tanah-tanah di dunia, yaitu 0,03 – 2,0 mg/kg. Selain itu, kandungan total Se tersebut juga berada pada kisaran total Se untuk tanah-tanah dengan kandungan Se tinggi (*seleniferous soils*), yaitu 1 – 100 mg/kg. Hasil pengukuran total Se pada sampel tanah dalam penelitian ini tidak reliabel dikarenakan tingginya nilai standar deviasi dan keragaman dari pengukuran ulangan terhadap konsentrasi Se tersebut menggunakan ICP-OES. Selain itu, limit deteksi Se (87,63 $\mu\text{g/L}$ atau 4,38 mg/kg) dan limit determinasi Se (292,10 $\mu\text{g/L}$ atau 14,60 mg/kg) pada ekstrak tanah tersebut juga sangat tinggi. Tingginya keragaman, standar deviasi, limit deteksi dan limit determinasi pada ekstrak tanah tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya kontaminasi Se selama eksperimen berlangsung. Hal ini ditunjukkan oleh berlebihnya konsentrasi Se di dalam sampel tanah yang di-*spike* Se dibandingkan dengan konsentrasi yang seharusnya.

5.2. Saran

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengukuran konsentrasi Se menggunakan ICP-OES tidak direkomendasikan karena kurang sensitifnya ICP-OES untuk mengukur elemen dengan konsentrasi $< 100 \mu\text{g/L}$.

REFERENSI

Balai Penelitian Tanah. 2009. Petunjuk Teknis Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air, dan Pupuk. Edisi 2. Balai Penelitian Tanah, Bogor. ISBN 978-602-8039-21-5. 234 hlm.

Abrams, M.M., Shennan, C., Zasoski, R.J., Burau, R.G., 1990. Selenomethionine uptake by wheat seedlings. *Agron. J.* 82, 1127-1130.

Dhillon, K.S., Dhillon, S.K., 2014. Development and mapping of seleniferous soils in northwestern India. *Chemosphere* 99, 56-63.

EPA, 2001. Method 200.7: Trace Elements in Water, Solids, and Biosolids by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, Revision 5.0, January 2001. United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

Fordyce, F.M., 2013. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In: Selinus, O. (Ed.), *Essentials of Medical Geology*. Springer, The Netherlands, pp. 375-416.

Gao, J., Liu, Y., Lin, Z.Q., Banuelos, G.S., Lam, M.H.W., Yin, X.B., 2011. Daily selenium intake in a moderate selenium deficiency area of Suzhou. *China Food Chem.* 126, 1088-1093.
Girling, C.A., 1984. Selenium in agriculture and environment. *Agric. Ecosyst. Environ.* 11, 37-65.

Gupta, U.C., Winter, K.A., 1975. Selenium content of soils and crops and the effects of lime and sulfur on plant selenium. *Can. J. Soil Sci.* 55, 161-166.

Harrison, J.H., Hancock, D.D., Conrad, H.R., 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67, 123-132.

Hatfield, D.L., Tsuji, P.A., Carlson, B.A., Gladyshev, V.N., 2014. Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health and development. *Trends Biochem. Sci.* 39, 112-120.

Hidiroglou, M., 1979. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: A review. *J. Dairy Sci.* 62, 1195-1206.

Hopper, J.L., Parker, D.R., 1999. Plant availability of selenite and selenate as influenced by the competing ions phosphate and sulfate. *Plant Soil* 210, 199-207.

Houba, V.J.G., Temminghoff, E.J.M., Gaikhorst, G.A., Van Vark, W., 2000. Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31, 1299-1396.

Imran, M., Akhtar, M.S., Khan, K.S., Khalid, A., Mehmood, A., Rukh, S., Nazeer, G., Manzoor, R., 2016. Total and extractable soil selenium contents variation within and across the parent materials. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 9, 175-186.

Johnsson, L., 1992. Selenium in Swedish soils. Factors influencing soil content and plant uptake. Department of Soil Sciences. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Kato, M.A., Finley, D.J., Lubitz, C.C., Zhu, B., Moo, T., Loeven, M.R., Ricci, J.A., Zarnegar, R., Katdare, M., III, T.J.F., 2010. Selenium decreases thyroid cancer cell growth by increasing expression of GADD153 and GADD34. *Nutr. Cancer* 62, 66-73.

- Keskinen, R., Ekholm, P., Yli-Halla, M., Hartikainen, H., 2009. Efficiency of different methods in extracting selenium from agricultural soils of Finland. *Geoderma* 153, 87-93.
- Kikkert, J., Berkelaar, E., 2013. Plant uptake and translocation of inorganic and organic forms of selenium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 65, 458-465.
- Li, H., McGrath, S.P., Zhao, F., 2008. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytol.* 178, 92-102.
- Oldfield, J.E., Muth, O.H., Schubert, J.R., 1960. Selenium and vitamin E as related to growth and white muscle disease in lambs. *Exp. Biol. Med.* 103, 799-800.
- Rayman, M.P., 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet* 356, 233-241.
- Rayman, M.P., 2002. The argument for increasing selenium intake. *P. Nutr. Soc.* 61, 203-215.
- Ros, G.H., Van Rotterdam, A.M.D., Doppenberg, G.D., Bussink, D.W., Bindraban, P.S., 2014. Se fertilization: An agro-ecosystem approach. VFRC Report 2014/3. Virtual Fertilizer Research Center, Washington, D.C., p. 62.
- Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganter, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G., Hoekstra, W.G., 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179, 588-590.
- Sarojam, P., 2010. Analysis of wastewater for metals using ICP-OES Application Note ICP-Optical Emission Spectroscopy. Parkin Elmer, Inc., Waltham, MA, USA, p. 11 p.
- Sheppard, S.C., Addison, J.A., 2008. Soil sample handling and storage. In: Carter, M.R., Gregorich, E.G. (Eds.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, Florida, pp. 39-49.
- Shin, S.H., Yoon, M.J., Kim, M., Kim, J., Lee, S., Lee, Y., Bae, S., 2007. Enhanced lung cancer cell killing by the combination of selenium and ionizing radiation. *Oncol. Rep.* 17, 209-216.
- Spackman, L.K., Vicklund, L.E., Vance, G.F., Carrol, P.K., Steward, D.G., Luther, J.G., 1994. Standard operating procedures for the sampling and analysis of selenium in soil and overburden/spoil material. Research Publication MP 82. College of Agriculture, University of Wyoming, Laramie, WY, p. 13.
- Stroud, J.L., Broadley, M.R., Foot, I., Fairweather-Tait, S.J., Hart, D.J., Hurst, R., Knott, P., Mowat, H., Norman, K., Scott, P., Tucker, M., White, P.J., McGrath, S.P., Zhao, F.J., 2010. Soil factors affecting selenium concentration in wheat grain and the fate and speciation of Se fertilisers applied to soil. *Plant Soil* 332, 19-30.
- Stroud, J.L., McGrath, S.P., Zhao, F., 2012. Selenium speciation in soil extracts using LC-ICP-MS. *Int. J. Environ. An. Ch.* 92, 222-236.
- Supriatin, S., Terrones, C.A., Bussink, W., Weng, L., 2015a. Drying effects on selenium and copper in 0.01 M calcium chloride soil extractions. *Geoderma* 255-256, 104-114.

- Supriatin, S., Weng, L., Comans, R.N.J., 2015b. Selenium speciation and extractability in Dutch agricultural soils. *Sci. Total Env.* 532, 368-382.
- Tan, J., Zhu, W., Wang, W., Li, R., Hou, S., Wang, D., Yang, L., 2002. Selenium in soil and endemic diseases in China. *Sci. Total Environ.* 284, 227-235.
- Tanah, B.P., 2009. Petunjuk Teknis Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air dan Pupuk In: Prasetyo, B.H., Santoso, D., Winarni, L.R. (Eds.). Balai Penelitian Tanah, Bogor.
- Tolu, J., Hécho, I.L., Bueno, M., Thiry, Y., Potin-Gautier, M., 2011. Selenium speciation analysis at trace level in soils. *Anal. Chim. Acta* 684, 126-133.
- Van Dijk, D., Houba, V.J.G., 2000. Homogeneity and stability of materials distributed within the Wageningen evaluating programmes for analytical laboratorium. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31, 1745-1756.
- Weng, L., Vega, F.A., Supriatin, S., Bussink, W., Van Riemsdijk, W.H., 2011. Speciation of Se and DOC in soil solution and their relation to Se bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 45, 262-267.
- White, J.G., Zasoski, R.J., 1999. Mapping soil micronutrients. *Field Crops Res.* 60, 11-26.
- Williams, M.C., Mayland, H.F., 1992. Selenium absorption by two-grooved milkvetch and western wheatgrass from selenomethionine, selenocystine, and selenite. *J. Range Manage.* 45, 374-378.
- Wilson, G.F., 1964. Responses in dairy calves to mineral supplementation. *N. Z. J. Agric. Res.* 7, 432-433.
- Yamada, H., Hattori, T., 1989. Forms of soluble selenium in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 35, 553-563.
- Yamada, H., Kamada, A., Usuki, M., Yanai, J., 2009. Total selenium content of agricultural soils in Japan. *Soil Sci. Plant Nutr.* 55, 616-622.
- Zayed, A., Lytle, C.M., Terry, N., 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta* 206, 284-292.
- Zhao, C., Ren, J., Xue, C., Lin, E., 2005. Study on the relationship between soil selenium and plant selenium uptake *Plant Soil* 277, 197-206.