

VALIDASI METODE ANALISIS Pb DENGAN MENGGUNAKAN *FLAME* SPEKTROFOTOMETER SERAPAN ATOM (SSA) UNTUK STUDI BIOGEOKIMIA DAN TOKSISITAS LOGAM TIMBAL PADA TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum*)

Dian Septiani Pratama^{1*}, Diky Hidayat¹, Eko Wijianto², Harnita Yuniar²

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung Bandar Lampung, 35145

²Mahasiswa Jurusan Kimia, Universitas Lampung, Bandar Lampung, 35145

pratama.dian@gmail.com

Artikel Info

Diterima
tanggal
11.05. 2016

Disetujui
publikasi
tanggal
16.09.2016

Kata kunci : Pb,
validasi metode,
SSA, tomat

ABSTRAK

Validasi metode analisis untuk studi biogeokimia dan toksisitas logam timbal (Pb) pada tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*) dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom. Konsentrasi logam Pb ditentukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) AA 240FS pada lima parameter validasi metode yaitu: linearitas, selektivitas, limit deteksi, limit kuantifikasi, dan presisi. Validasi metode pada penentuan kadar Pb dalam tanaman menunjukkan nilai koefisien korelasi (r) Pb adalah 0,9982; nilai LOD adalah 3,19 ppm; LOQ adalah 10 ppm; presisi dengan nilai relatif standar deviasi (RSD) < 5 %. Berdasarkan hasil penelitian, maka metode ini menunjukkan performa metode yang baik untuk analisis logam Pb pada tanah, daun, batang dan buah tomat; sehingga dapat diaplikasikan untuk metode analisis studi biogeokimia Pb pada tanaman tomat.

PENDAHULUAN

Salah satu sumber pencemaran logam berat yang sering ditemukan dalam tumbuhan adalah logam timbal (Pb). Timbal dalam kehidupan sehari-hari sering disebut dengan timah hitam atau plumbum. Sumber-sumber Pb dapat berasal dari alam dan sebagai akibat antropogenik (Manahan, 1992). Logam Pb dengan paparan yang melampaui batas ambang yang diperbolehkan dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologi tanaman diantaranya tinggi tanaman, penurunan panjang akar, luas permukaan daun, dan berat kering tanaman. Hal ini menyebabkan terjadinya hambatan laju pertumbuhan yang pada akhirnya akan menghambat produktivitas tanaman dengan menurunnya hasil produksi.

Pencemaran Pb pada tanaman sebagian besar diakumulasi oleh organ tanaman, yaitu daun, kulit batang, akar, dan akar umbi-umbian. Mekanisme masuknya partikel Pb ke dalam jaringan daun, yaitu melalui stomata daun yang berukuran besar dan ukuran partikel Pb lebih kecil, sehingga Pb dengan mudah masuk ke dalam jaringan daun melalui proses penjerapan pasif (Dahlan, 2004).

Hindersah dkk. (2004) melakukan penelitian tentang akumulasi Pb pada buah tomat yang ditanam di tanah yang mengandung lumpur kering dari instalasi pengolahan air limbah domestik. Dalam penelitian tersebut, diketahui bahwa buah dari tanaman yang diberi 25 dan 50 % lumpur menyerap Pb masing-masing 1,94 dan 2,65 mg/kg yang masih lebih rendah daripada ambang batas dari Departemen Kesehatan RI yaitu 4 mg/kg.

Tingginya akumulasi timbal dalam tanaman pertanian menjadi salah satu faktor penting dilakukannya penelitian mengenai studi toksisitas dan biogeokimia logam timbal (Pb) pada tanaman. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman tomat. Tomat (*Lycopersicon esculentum*) merupakan salah satu produk hortikultura yang berpotensi, menyehatkan dan mempunyai prospek pasar yang cukup menjanjikan, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas Pb pada tanaman tersebut. Logam Pb dengan beberapa variasi konsentrasi akan dipaparkan pada tanaman tomat yang telah ditanam. Hasil pemaparan selanjutnya dianalisis atau ditetapkan kadar timbalnya.

Metode yang digunakan dalam penetapan kadar timbal dalam penelitian ini adalah spektrofotometri serapan atom (SSA). Menurut Khopkar (1990), metode Spektrofotometri Serapan Atom dapat menentukan kadar logam tanpa dipengaruhi oleh keberadaan logam yang lain. Selain itu pelaksanaannya sederhana, interferensinya sedikit, dan cocok untuk analisis sekelumit logam karena mempunyai kepekaan yang tinggi (batas deteksi kurang dari 1 ppm) (Rohman, 2007).

Validasi metode analisis digunakan untuk mengkonfirmasi atau membuktikan bahwa metode yang digunakan dalam suatu penelitian memenuhi persyaratan sehingga dapat dinyatakan bahwa data yang diperoleh selama penelitian merupakan hasil yang baik dan dapat dipercaya. Tujuan utama validasi adalah untuk menjamin metode analisis yang digunakan mampu memberikan hasil yang cermat, handal, dan dapat dipercaya (Horwitz, 1975).

METODE

Pembuatan Larutan Timbal (Pb)

Untuk membuat larutan Pb yang digunakan dalam proses pemaparan, terlebih dahulu dilakukan pembuatan larutan induk Pb 1000 ppm dengan cara melarutkan sebanyak 1,6 gram serbuk $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ke dalam labu ukur 1L, kemudian ditambah akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan. Konsentrasi Pb yang digunakan untuk pemaparan adalah 0; 2,5; 10; 15; 20; dan 50 ppm. Untuk mendapatkan konsentrasi Pb yang diinginkan tersebut, maka dilakukan pengenceran dari larutan induk Pb 1000 ppm.

Penyiapan Tanaman

Setelah bibit tomat berumur 2-3 minggu sejak semai, bibit tersebut dapat dipindah ke *polybag* yang telah disiapkan. Penanaman harus dilakukan segera setelah bibit dicabut agar tidak layu. Letakkan bibit di tempat teduh dan sirami secukupnya untuk menjaga kelembabannya. Tanaman perlu diberi ajir (tiang penyangga) untuk menambah kekuatan tanaman dan mencegah buah-buahan bersentuhan dengan permukaan tanah. Tanaman tomat yang telah tumbuh sehelaian daun kemudian dilakukan pemaparan. Dilakukan pemaparan setiap hari sebanyak 50 ml larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan variasi konsentrasi yang dibuat per-*polybag* sedangkan pada kontrol hanya dilakukan penyiraman dengan menggunakan air lalu dilakukan pengukuran parameter pertumbuhan.

Pengukuran Kadar Pb

Populasi penelitian adalah tanaman tomat yang ditanam di dalam *polybag* yang diperkirakan telah terakumulasi logam Pb hasil dari proses pemaparan pada masing-masing konsentrasi pemaparan. Metode pengambilan sampel dilakukan secara purposif dimana diasumsikan semua tanaman tomat yang ditanam terkontaminasi logam Pb. Proses pengambilan sampel dan analisis dilakukan dalam dua periode yaitu tanaman hasil pemaparan setelah berusia 4 minggu dan 8 minggu.

Preparasi tumbuhan (akar, batang, daun dan buah) dan tanah.

Sampel dari tanah dan juga tanaman tomat yang berupa akar, batang, daun dan buah dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 80 °C selama 24 jam sampai mencapai berat

kering dan konstan (Kord dkk., 2010). Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan dengan mortar, lalu disaring menggunakan *sieve* hingga mencapai diameter sekitar 0,1 mm. Ditimbang masing-masing 1 gram sampel dari akar, batang, daun dan buah. Sampel kemudian didestruksi dengan menggunakan HNO₃ pekat (65%) sebanyak 5 mL dan didiamkan dalam lemari asam selama 3 jam. Hasil destruksi selanjutnya diuapkan di atas pemanas listrik (*hotplate*) pada suhu 105 °C hingga sisa volumenya mencapai 1 mL. Setelah itu, larutan dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan kemudian ditambah dengan akuades sampai tanda batas 50 mL. Filtrat yang diperoleh kemudian diukur dengan Spektrofotometer Serapan Atom untuk menentukan kadar logam Pb.

Penentuan Konsentrasi Pb dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Penentuan konsentrasi logam Pb pada sampel dilakukan dengan teknik kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar, dengan konsentrasi standar Pb yaitu 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; dan 6 ppm. Masing-masing konsentrasi standar, serapannya diukur dengan Spektrofotometer Serapan Atom pada kondisi optimum yang didapat dari manual alat.

Validasi Metode

Dalam penelitian ini digunakan 5 validasi metode, yaitu:

1. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon baik secara langsung maupun dengan bantuan transformasi matematika, menghasilkan suatu hubungan yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Dalam penelitian ini, dilakukan pengukuran absorbansi terhadap larutan standar timbal dengan konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; 4; dan 6 ppm. Selanjutnya dilakukan penentuan linearitasnya menggunakan kurva kalibrasi. Selain itu, linearitas ditentukan melalui pengukuran residual plot terhadap absorbansi larutan standar timbal.

2. Selektivitas

Selektivitas merupakan kemampuan untuk mengukur target analit dengan keberadaan komponen-komponen lain dalam matrik sampel tanpa mengganggu hasil analisa. Dalam

penelitian ini penentuan selektivitas dilakukan dengan membandingkan nilai absorbansi hasil analisis dari sampel timbal dengan konsentrasi 8 ppm dan campuran (timbal dan tembaga) dengan konsentrasi yang sama. Hasil penelitian digunakan untuk menentukan selektivitas dari metode yang digunakan. Penentuan selektivitas dilakukan menggunakan uji-t dan uji-F.

3. *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ)

Limit of Detection atau batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi unsur dalam mg/L, yang memberikan pembacaan sebanding dengan 3 kali deviasi standar dari sampel blangko. Pada penelitian ini batas deteksi ditentukan dengan mengukur respon blangko sebanyak 10 replikat. Menurut WHO (1992), LOQ diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Secara umum, batas kuantifikasi dapat diperkirakan 10 kali standar deviasi.

4. *Presisi*

Penentuan presisi dilakukan dengan mengukur konsentrasi sampel dengan 3 kali pengulangan. Dari nilai absorbansi tersebut kemudian ditentukan nilai konsentrasi (menggunakan kurva kalibrasi), lalu nilai simpangan baku (SD) dan RSD dapat ditentukan. Metode dengan presisi yang baik ditunjukkan dengan perolehan %RSD < 5 %.

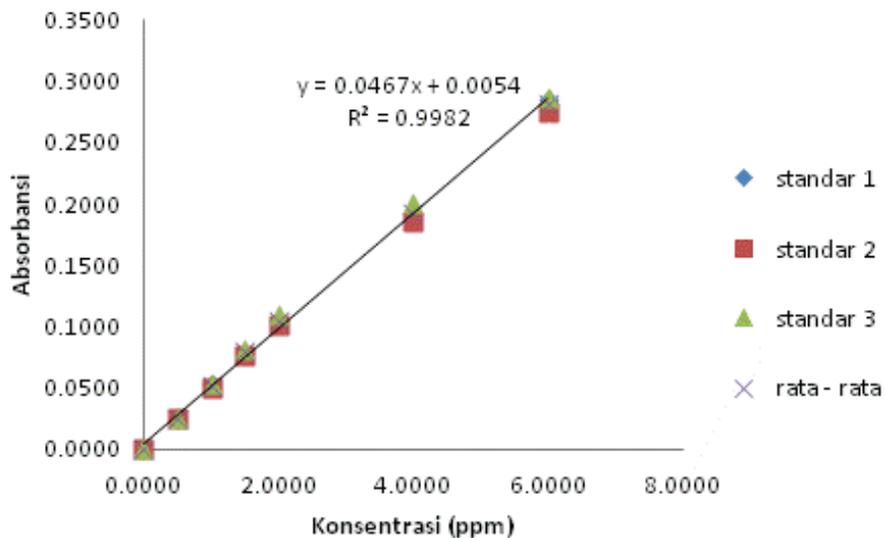
HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Metode

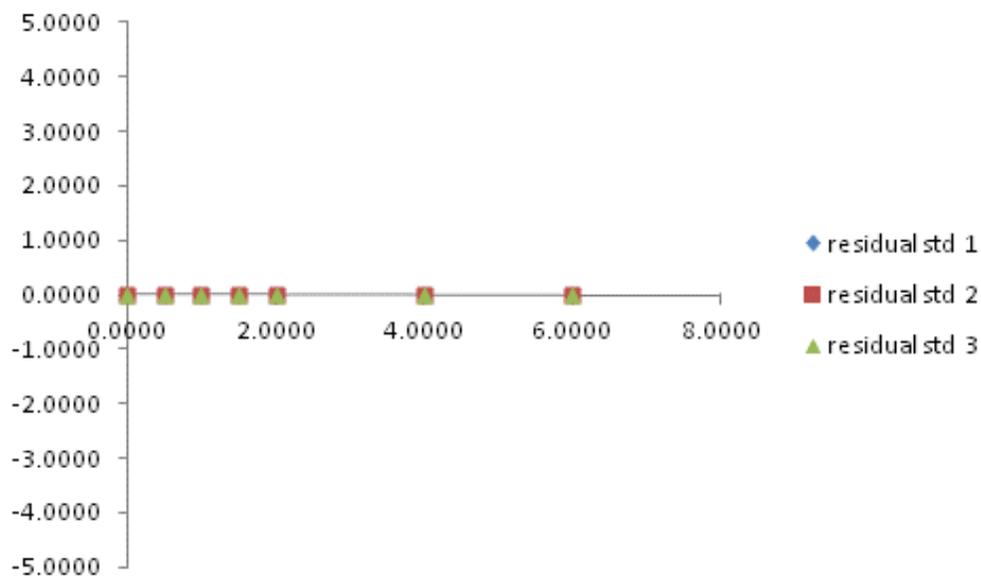
1. *Linearitas*

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kurva kalibrasi dari larutan standar adalah seperti terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Berdasarkan nilai rata-rata hasil pengukuran serapan larutan standar timbal diperoleh persamaan garis linear $y = 0,0054 + 0,0467x$ dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9982. Nilai r dari hasil analisis larutan standar dalam penelitian ini menunjukkan hasil yang baik karena mendekati 1. Hal ini memperlihatkan bahwa terdapat hubungan yang proporsional antara serapan (respon analitik) dengan konsentrasi yang diukur. Hasil koefisien korelasi (r) yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar timbal dapat dikatakan memenuhi syarat kelinearan garis berdasarkan kriteria yang dikeluarkan oleh AOAC

(1993), dimana $r > 0,9950$. Linearitas yang baik juga diperlihatkan pada residual plot yang terdistribusi di sekitar garis pusat (Gambar 2).



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar timbal.



Gambar 2. Residual plot pengukuran larutan standar

2. Selektivitas

Berdasarkan perhitungan uji selektivitas dapat diketahui bahwa nilai dari t-hitung lebih besar dari t-tabelnya, sehingga dalam keadaan ini ada perbedaan signifikan antara nilai rata-rata dari kedua analit tersebut (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan untuk penentuan kadar Pb sudah termasuk dalam kriteria selektif terhadap logam Cu.

Tabel 1. Uji selektifitas Pb

No	Abs a	Abs (a+b)	Konsentrasi a	Konsentrasi a+b
1	0,3126	0,1752	6,578	3,636
2	0,3097	0,1735	6,516	3,600
3	0,3103	0,1717	6,529	3,561
4	0,3051	0,1751	6,418	3,634
5	0,3141	0,1756	6,610	3,645
6	0,3147	0,1667	6,623	3,454
7	0,3014	0,1716	6,338	3,559
8	0,3079	0,1731	6,478	3,591
9	0,3052	0,1744	6,420	3,619
10	0,3096	0,1681	6,514	3,484
Mean			6,502	3,578
Sd			0,091	0,065
Sd gabungan			0,079	
t hitung			36,965	
t tabel			2,262	

Nilai t hitung > t tabel, berarti nilai x dan y nyata berbeda

Ket: a= Pb; a+b = Pb+Cu

3. Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ)

Hasil yang diperoleh dari perhitungan penentuan nilai LOD dan LOQ dari sampel blangko (tanah yang tidak diberi paparan Pb) disajikan pada Tabel 2.

4. Uji Presisi

Keseksamaan atau presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi merupakan ukuran derajat keterulangan dari metode analisis yang memberikan hasil yang sama pada beberapa perulangan. Penentuan simpangan baku (SD) dan simpangan baku relatif (RSD) dilakukan pada pengukuran sampel tanaman (akar, batang, dan daun)

Tabel 2. LOD dan LOQ dari pengukuran blangko sampel

No,	Sampel blangko		
	Abs	Konsentrasi terukur ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi sebenarnya ($\mu\text{g/g}$)
1	0,0073	0,155	7,762
2	0,0074	0,157	7,869
3	0,0050	0,106	5,300
4	0,0052	0,110	5,514
5	0,0050	0,106	5,300
6	0,0050	0,106	5,300
7	0,0052	0,110	5,514
8	0,0044	0,093	4,657
9	0,0053	0,112	5,621
10	0,0063	0,134	6,692
	Rata-rata		5,953
	Sd		1,046
	LOD		3,139
	LOQ		10,462

Tabel 3. Uji Presisi untuk sampel dengan paparan konsentrasi Pb 2,5 ppm

Sampel	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi Terukur	Kadar Air (%)	Kadar Logam (mg/kg) dry base	Rata-rata (mg/Kg)	SD	RSD (%)
Akar	1	0,0059	0,1253		6,263			
	2	0,0059	0,1253	91	6,263	6,228	0,062	0,993
	3	0,0058	0,1231		6,156			
Batang	1	0,0055	0,1167		5,835			
	2	0,0055	0,1167	92	5,835	5,835	0,000	0,000
	3	0,0055	0,1167		5,835			
Buah	1	0,0053	0,1124		5,621			
	2	0,0052	0,1103	93	5,514	5,550	0,062	1,114
	3	0,0052	0,1103		5,514			
Daun	1	0,0058	0,1231		6,156			
	2	0,0058	0,1231	93	6,156	6,156	0,000	0,000
	3	0,0058	0,1231		6,156			
Tanah	1	0,0064	0,1360		6,799			
	2	0,0063	0,1338	76	6,692	6,727	0,062	0,919
	3	0,0063	0,1338		6,692			

Berdasarkan hasil penentuan koefisien variasi yang diperoleh dari sampel tanaman dan daun, didapatkan bahwa semua sampel memiliki nilai koefisien variasi (RSD) kurang dari 5 %. Hal ini menginformasikan bahwa sistem operasional alat dan analisis memiliki presisi yang cukup baik terhadap metode dengan respon yang kurang konstan, sehingga hasil pengukuran untuk sampel telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 5 % (AOAC, 1993).

KESIMPULAN

Validasi metode yang dilakukan yaitu linearitas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, dan selektivitas memberikan respon yang sangat baik. Hal ini membuktikan bahwa metode analisis logam Pb dengan Spektrofotometer Serapan Atom (*flame*) dapat digunakan untuk penentuan kadar timbal pada tanaman tomat untuk studi biogeokimia logam Pb dalam tanah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas dukungan peralatan dan instrumentasi yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC, 1993, *Peer Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures*, Arlington, VA.
- Dahlan, E.N., 2004, *Studi Kemampuan Tanaman dalam Menjerap dan Menyerap timbal Emisi dari Kendaraan Bermotor*, Thesis Fakultas Pascasarjana IPB.
- Hindersah, R., Kalay, A.M., dan Muntalif, B.S., 2004, *Akumulasi Pb dan Cd pada Buah Tomat yang Ditanam di Tanah Mengandung Lumpur Kering dari Instalasi Pengolahan Air Limbah Domestik*, Makalah Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI), Jakarta.
- Horwitz, W., 1975, *Official Methods of Association of Official Analytical Chemistry*, 12th. ed., Mc Grow-Hill, New York.
- Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik Edisi kedua*, UI Press, Jakarta.

Kord, B., Mataji, A., dan Babaie, S., 2010, Pine (*Pinus Eldarica Medw.*) needles as indicator for heavy metals pollution. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, Vol 7(1): 79-84.

Manahan, S.E., 1992, *Environmental Chemistry*, 6th. Ed., *Lewis Publisher*, USA.

Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar Universitas Islam Indonesia, Hal. 298.

WHO (World Health Organization), 2004, *Validation of Analytical Procedures Used In The Examination of Pharmaceutical Materials*, p. 119, 130.