

**PENGARUH LARUTAN PENDESTRUKSI PADA
PENENTUAN TIMBAL (Pb) DALAM DARAH SECARA
SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM (SSA)**

SKRIPSI

oleh:
FITRIYANI
0510922002



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2008

**PENGARUH LARUTAN PENDESTRUKSI PADA
PENENTUAN TIMBAL (Pb) DALAM DARAH SECARA
SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM (SSA)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh:

**FITRIYANI
0510922002**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2008**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH LARUTAN PENDESTRUKSI PADA
PENENTUAN TIMBAL (Pb) DALAM DARAH SECARA
SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM (SSA)**

oleh :
FITRIYANI
0510922002

**Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia**

Pembimbing I,

Ir. Adam Wiryawan, MS
NIP: 131 413 446

Pembimbing II,

Dr. Atikah, Apt. ,MSi
NIP: 131 573 958

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

M. Farid Rahman, S.Si, M.Si
NIP. 132 158 726

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nam : Fitriyani
NIM : 0510922002
Jurusan : Kimia
Penulis Skripsi berjudul :

PENGARUH LARUTAN PENDESTRUKSI PADA PENENTUAN TIMBAL (Pb) DALAM DARAH SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM (SSA)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari Skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termasuk di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam Skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata Skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Malang, Juli 2008
Yang menyatakan,

(Fitriyani)
NIM. 0510922002

PENGARUH LARUTAN PENDESTRUKSI PADA PENENTUAN TIMBAL (Pb) DALAM DARAH SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM (SSA)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh larutan asam pendestruksi terhadap hasil pengukuran timbal (Pb) dalam darah secara Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Larutan destruksi digunakan adalah asam nitrat pekat (HNO_{3p}), kombinasi $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:1), $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:2) dan $\text{H}_2\text{SO}_{4p} : \text{HNO}_{3p}$ (1:1) dan $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:2). Sampel Pb dalam *spike* (sampel yang ditambahkan larutan baku dengan konsentrasi yang telah diketahui) tanpa darah dan dalam darah pada konsentrasi Pb 2, 4, 6 ppm. Sampel Pb diambil dari udara terminal kota Banjarmasin pada pukul 07.00 - 18.00, sampel darah diambil pada pekerja di terminal yang bekerja dari 2 - 30 tahun pada pagi hari (pukul 08.00 - 10.00) yang diukur dengan kurva baku dan adisi standar. Untuk penentuan pengaruh larutan destruksi pada sampel *spike* dilakukan uji F (ANOVA) dengan uji BNT pada taraf 5%, untuk menentukan perbedaan yang bermakna antara kurva baku dan adisi standar secara statistik dilakukan uji t pada α 5%. Untuk sampel *spike* diperoleh larutan HNO_{3p} , $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:1) dan $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:2) yang memberikan hasil *recovery* rata-rata 98,72% dan ketiganya tidak berbeda nyata secara statistik. Larutan destruksi $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:2) memberikan hasil *recovery* terbesar 95,87% untuk sampel *spike* dalam darah. Hasil pengukuran Pb dalam *spike* menggunakan metoda adisi standar memiliki hasil Pb lebih baik dibandingkan kurva baku dengan *recovery* 98,93%. Kadar timbal (Pb) di udara paling tinggi diperoleh pada pukul 13.00 WIT ekuivalen dengan meningkatnya kadar debu di terminal serta kadar timbal (Pb) dalam darah pekerja semakin meningkat dengan semakin lamanya bekerja.

THE INFLUENCE OF DESTRUCTION SOLUTION ON DETERMINATION OF LEAD (Pb) IN BLOOD SAMPLE BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY (AAS)

ABSTRACT

The aim of this research was to know the influence of acid solution destructor to result of lead (Pb) measurement in blood by Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS). Solution of destructor used are nitric acid (HNO_{3p}), combination of nitric acid (HNO_{3p}) and hydrochloric acid (HCl_p) (1:1), $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:2), HNO_{3p} and combination of $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:1) and also $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:2). Sample of Pb in spike (enhanced sample to standard solution which concentration have been known) without blood and in blood at concentration of Pb 2, 4, 6 ppm. Sample of Pb taken from air at bus station of Banjarmasin at 07.00 - 18.00, blood sample taken from worker at bus station who work for 2 - 30 year at 08.00 - 10.00 a.m which is measured by standard curve and standard addition. To know the influence of solution to spike sample, data were analyzed by ANOVA (F-test) and LSD test at level of 5%, to know the significant different both standard curve and standard addition has be done statistically by t-test ($\alpha = 0.05$). For the sample of spike obtained by solution of HNO_{3p} , $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:1) and $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:2), with mean recovery of 98.72 % and third do not differ significant as statistically. Solution of destructor $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:2) giving highest recovery that is 95.87% for the sample of spike in blood. The measurement of Pb in spike by using addition method have better result than standard curve with recovery 98.93%. The highest lead concentration in the air obtained at 13.00 pm that is equivalent to the increasing of dust concentration on bus station, as well as lead concentration on blood of bus station worker increase with duration of work.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim

AlhamdulillahRabbil'alamin – segala puji bagi Allah, hanya semata-mata karena kehendak dan limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa adanya bantuan dari beberapa pihak, oleh karenanya pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ir. Adam Wiryawan, MS dan Dr. Atikah, Apt. , MSi selaku dosen Pembimbing I dan II, yang banyak memberikan bimbingan, arahan dan kemudahan penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Ir. Bambang Ismuyanto, MS. selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan nasehat selama perkuliahan.
3. Ketua jurusan, dosen dan staf karyawan di Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
4. Dra. Sri Wardhani, MSi, M. Farid Rahman, SSi, MSi, Dra. Anna Rosdiana, M. App. Sc, dan Ir. Bambang Ismuyanto, MS, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam perbaikan skripsi ini.
5. Kepala beserta staf Laboratorium Kimia Analitik Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Kimia Kesehatan Banjarmasin, atas segala bantuan dan arahan selama penulis melakukan penelitian.
6. Dan semua pihak yang telah membantu selama penelitian sampai terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka dengan segala kerendahan hati, penulis menerima saran dan kritik yang membangun dari semua pembaca agar lebih baik dan menjadi bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Juli 2008

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Timbal (Pb).....	5
2.2 Destruksi.....	7
2.3 Absorpsi, distribusi, ekskresi timbal (Pb) dalam tubuh.....	11
2.4 Ikatan timbal (Pb) dalam organ tubuh.....	11
2.5 Spektrofotometer Serapan Atom.....	13
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
3.2.1 Alat-alat Penelitian.....	21
3.2.2 Bahan-bahan Penelitian	21
3.3 Tahapan Penelitian.....	22
3.3.1 Pengambilan sampel darah.....	22
3.3.2 Pengambilan sampel debu (TSP).....	22
3.3.3 Preparasi sampel <i>spike</i> dan <i>spike</i> darah.....	23

3.3.4 Penentuan pengukuran kurva baku dan kurva adisi standar	24
3.3.5 Preparasi sampel darah pekerja	24
3.3.6 Preparasi sampel Pb udara	25
3.3.7 Kondisi optimum alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).....	25
3.4 Penentuan konsentrasi Pb.....	26
3.4.1 Perhitungan Pb dalam darah	26
3.4.2 Perhitungan Pb pada debu (TSP).....	26
3.5 Analisa data.....	27
3.5.1 Penentuan persamaan regresi	27
3.5.2 Penentuan uji-F sampel <i>spike</i> dan <i>spike</i> dalam darah.....	28
3.5.3 Penentuan uji-t kurva baku dan kurva adisi standar.....	30
3.5.4 Penentuan statistik untuk sampel.....	31

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh beberapa larutan destruksi pada sampel <i>spike</i>	33
4.2 Pengaruh beberapa larutan destruksi pada Pb dalam <i>spike</i> darah.....	37
4.3 Penentuan kurva kalibrasi timbal (Pb) yang optimum secara kurva baku dan adisi standar.....	40
4.4 Pengaruh kadar timbal (Pb) di udara terhadap waktu pengambilan	41
4.5 Pengaruh lama bekerja dengan kadar timbal (Pb) dalam darah.....	43

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran.....	45

DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Struktur EDTA..... 7
Gambar 2.2	Struktur enzim sistein dan sistin..... 12
Gambar 2.3	Struktur kompleks Pb-sistein..... 12
Gambar 2.4	Struktur hem..... 13
Gambar 2.5	Proses absorpsi..... 16
Gambar 2.6	Kurva baku..... 19
Gambar 2.7	Kurva adisi..... 20
Gambar 4.1	Pengaruh perbandingan larutan asam terhadap hasil destruksi spike..... 33
Gambar 4.2	Hasil perolehan kembali sampel <i>spike</i> 34
Gambar 4.3	Pengaruh perbandingan larutan asam terhadap hasil destruksi spike dalam darah... 37
Gambar 4.4	Hasil perolehan kembali sampel <i>spike</i> darah 38
Gambar 4.5	Hasil pengukuran Pb udara bebas..... 41
Gambar 4.6	Hasil konsentrasi debu dan Pb di udara..... 42
Gambar 4.7	Hasil lama kerja dan Pb dalam darah pekerja..... 43
Gambar L.4.1	Batas Deteksi Kurva Standar rentang 0 - 10 ppm..... 69
Gambar L.4.2	Batas Deteksi Kurva Standar rentang 0 - 6 ppm..... 70
Gambar L.4.5	Kurva adisi konsentrasi 2,00 ppm..... 71
Gambar L.4.6	Kurva adisi konsentrasi 4,00 ppm..... 71

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil pengukuran sampel <i>spike</i>	34
Tabel 4.2 Hasil pengukuran sampel <i>spike</i> darah.....	37
Tabel 4.3 Perbandingan hasil kurva baku.....	40
Tabel L.3.1 Data destruksi sampel <i>spike</i>	58
Tabel L.3.2 Data kurva baku dan adisi standar.....	60
Tabel L.3.3 Data sampel timbal di udara.....	62
Tabel L.3.4 Data sampel pekerja terminal.....	64
Tabel L.3.5 Data kurva baku rentang : 0,00 -10 ppm.....	66
Tabel L.5.1 Statistik Uji Anova <i>spike</i>	71
Tabel L.5.2 Statistik Uji Anova <i>spike</i> darah.....	74
Tabel L.5.4 Statistik Uji-t kurva baku dan adisi standar.....	77



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran
Halaman

Lampiran 1	Preparasi larutan	51
Lampiran 2	Diagram alir penelitian.....	53
Lampiran 3	Hasil analisis penelitian.....	58
Lampiran 4	Kurva penelitian.....	69
Lampiran 5	Analisa statistika	71



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat yang berbahaya dan bersifat *non biodegradable*, sebab ion logam timbal (Pb) dapat menahan gugus fungsi biologis yang esensial, seperti protein dengan sisi aktif *sistein* yang mengandung *thiol (sulfhydryl- SH)* dan enzim *ferokelatase* yang terdapat pada pembentukan *hemoglobin (Hb)* darah. Juga dapat menggantikan ion logam *esensial* dan mengubah konformasi aktif dalam biomolekul pada sistem biologis (Ochiai, 1977, di dalam Miller dan Connell, 2006). Maka jika tidak dapat diuraikan oleh metabolisme tubuh, ion timbal (Pb) dapat terakumulasi. Sehingga berdampak pada sistem syaraf, sistem pembentukan darah, ginjal, sistem jantung dan sistem reproduksi (Anonymous, 1980). Standar WHO untuk ambang batas kandungan Pb dalam darah 20 mikrogram/100 mL darah untuk dewasa dan 10 - 30 mikrogram/100 mL pada anak-anak (Batara, 2005).

Pencemaran timbal (Pb) dapat bersumber dari alam, industri seperti pengecoran, pemurnian, baterai, industri kabel, industri kimia yang menggunakan bahan pewarna, juga dari transportasi karena hasil pembakaran dari bahan tambahan Pb pada bahan bakar kendaraan bermotor yang dapat menghasilkan emisi Pb anorganik, dan ini merupakan salah satu sumber pencemaran udara yang utama, khususnya di kota-kota besar (Sudarmaji, dkk. , 2006).

Partikel Timbal (Pb) dan senyawanya dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran pencernaan sedangkan absorpsi melalui kulit sangat kecil tetapi yang melewati saluran pernafasan merupakan jalan masuk ke dalam tubuh yang dominan (Palar, 1994, di dalam Ardyanto, 2005). Dimana Pb anorganik mula-mula terdistribusi di jaringan lipid, terutama dalam ginjal dan hati, kemudian Pb mengalami redistribusi ke dalam tulang, gigi dan rambut. Sejumlah kecil Pb anorganik ditimbun dalam otak, dan hampir semua Pb anorganik terikat dengan *eritrosit* dalam sirkulasi darah (Anonymous, 1986). Kurang lebih 95% dari timbal yang terabsorpsi ke dalam darah terdapat dalam sel darah merah (*eritrosit*) dan timbal yang masuk ke dalam aliran darah ini disebarkan ke organ-organ tubuh sehingga dapat dilakukan analisa *whole blood*, yaitu pengukuran kadar timbal dalam darah (*blood lead level /BLL*).

Terkait dengan permasalahan yang telah disebutkan diatas diperlukan analisa timbal (Pb) yang lebih mudah, lebih teliti (akurasi), tepat (presisi), spesifik, sensitif, tidak menggunakan waktu yang lama dan dapat menganalisa logam dengan konsentrasi yang rendah, maka digunakan metoda Spektrofotometri Serapan Atom (SSA), kelemahan dari metoda ini bahwa untuk setiap jenis unsur yang dianalisa harus digunakan lampu *katode* tersendiri juga memerlukan persiapan waktu yang lebih untuk sampel yang terikat (kompleks), maka diperlukan analisis pendahuluan supaya sampel berubah menjadi senyawa terlarut yang dapat diukur.

Cara perlakuan agar didapatkan sampel yang siap diukur dilakukan destruksi sampel. Destruksi bertujuan untuk merubah sampel menjadi bahan yang dapat diukur, juga sebagai degradasi yaitu suatu reaksi perubahan kimia atau peruraian suatu senyawa atau molekul menjadi lebih sederhana. Pada preparasi sampel ada destruksi yang secara basah (*wet digestion*) dan kering (*dry ashing digestion*), destruksi basah umumnya menggunakan larutan asam kuat pekat baik tunggal maupun campuran sebagai destruktur untuk menghilangkan senyawa organik, sekaligus untuk melepaskan unsur yang akan diteliti dari ikatan unsur dengan senyawa yang berada dalam sampel. Sedangkan untuk destruksi kering dilakukan melalui pemanasan tinggi untuk menghilangkan semua senyawa organik, sehingga merubah sampel menjadi abu, tetapi mempunyai resiko untuk kehilangan residu anorganik sangat tinggi. Oleh sebab itu penelitian ini menggunakan destruksi basah dengan lima kombinasi larutan asam kuat pekat, kombinasi larutan destruksi asam tersebut adalah HNO_3 (D1), $\text{HNO}_3 : \text{HCl}$ (1:1) (D2), $\text{HNO}_3 : \text{HCl}$ (1:2) (D3), $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (1:1) (D4) dan $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (1:2) (D5) (Fong, 2006).

Pada larutan destruksi terdapat sulfat dari H_2SO_4 yang dapat menurunkan konsentrasi Pb karena terbentuknya PbSO_4 yang mengendap (Vogel, 1985). Di dalam analisis Pb menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom, gangguan sulfat ini dapat diatasi dengan penambahan senyawa pengompleks EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) dimana akan membentuk kompleks $[\text{Pb}(\text{EDTA})]^{2-}$. Di sini EDTA berfungsi sebagai *protective agent* yaitu pereaksi yang dapat membentuk senyawa yang stabil dengan volatilitas tinggi dengan analit sehingga analit tidak bereaksi dengan pengganggu yaitu sulfat. Larutan kompleks timbal EDTA mudah terurai dengan penggunaan buffer, dimana buffer yang digunakan

adalah buffer asetat dimana berfungsi untuk menyerap ion-ion hidrogen yang dihasilkan di dalam reaksi, karena ion hidrogen yang semakin banyak akan menurunkan stabilitas kompleks timbal EDTA, sehingga memudahkan dalam atomisasi pada suhu nyala (*flame*) yang digunakan (Day dan Underwood, 2002).

Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) mempunyai prinsip kerja yang berdasarkan pada proses pengatoman dari tingkat dasar ke tingkat tinggi, yang melibatkan dua langkah, yaitu atomisasi sampel dan absorpsi radiasi dari sumber sinar oleh atom bebas. Keberhasilan dalam proses atomisasi berpengaruh terhadap analisis, karena pemilihan jenis nyala bergantung pada temperatur penguapan. Untuk atom timbal (Pb) yaitu berkisar 2050 - 2300°C dengan waktu antara 10 - 5 detik, dengan panjang gelombang 283,3 nm (Van Loon, 1980).

Timbal (Pb) dalam darah berada dalam komposisi unsur yang kompleks, dan konsentrasi unurnya sangat rendah dan berbeda komposisinya dengan larutan baku $Pb(NO_3)_2$ maka pengukuran menggunakan adisi standar lebih baik dibandingkan dengan kurva baku. Sedangkan sampel *spike* adalah sampel yang ditambahkan analit (larutan baku) dengan konsentrasi yang telah diketahui, dapat dinyatakan juga sebagai *spike* matriks (metoda) yang berfungsi untuk mengetahui kinerja metoda dalam matriks tertentu dengan menambahkan analit kedalam sampel sebelum di preparasi. Keberhasilan pengukuran larutan destruksi asam untuk timbal (Pb) dalam darah dapat dilihat dari indikator ketelitian (akurasi) dan ketepatan (presisi) (Suoth, 2000).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan permasalahan pada penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana komposisi asam yang optimum untuk mendestruksi sampel pada analisis timbal (Pb) dalam darah.
2. Apakah hasil pengukuran larutan kurva baku dan kurva adisi mempunyai perbedaan ketepatan dan ketelitian yang bermakna secara statistik.
3. Bagaimana konsentrasi timbal (Pb) di udara dan Pb dalam darah.

1.3 Batasan Masalah

1. Sampel *spike* pada analisis timbal (Pb) dalam darah diperoleh dari PMI yang tidak mengandung timbal (Pb) dengan konsentrasi 2 ppm ; 4 ppm dan 6 ppm, sebagai blanko darah.
2. Komposisi larutan destruksi asam yang digunakan yaitu : HNO_{3p} , $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p (1:1)$, $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p (1:2)$, $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p} (1:1)$, $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p} (1:2)$.
3. Konsentrasi kurva baku dan adisi standar yang digunakan adalah 0 ; 2 ; 4 dan 6 ppm timbal (Pb) dari larutan baku $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.
4. Sampel debu dan timbal (Pb) di udara bebas di ambil dari lokasi terminal kota Banjarmasin dengan empat kali pengambilan yaitu : pukul 07.00 – 08.00 WIT ; pukul 10.00 – 11.00 WIT ; pukul 13.00 – 14.00 WIT dan 17.00 – 18.00 WIT menggunakan lokasi yang tidak tercemar sebagai pembanding.
5. Sampel darah diambil dari sepuluh pekerja laki-laki dewasa di terminal kota Banjarmasin didestruksi menggunakan larutan destruksi asam yang optimum.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui komposisi destruksi asam yang paling optimum sehingga dapat digunakan untuk preparasi sampel pada analisis timbal (Pb) dalam darah.
2. Menentukan perbedaan ketepatan, ketelitian pada kurva baku dan kurva adisi untuk konsentrasi timbal (Pb) dalam darah.
3. Menentukan konsentrasi timbal (Pb) di udara dan timbal (Pb) dalam sampel darah pekerja terminal.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penyusunan suatu metode destruksi asam dengan kombinasi yang optimum dalam preparasi analisis timbal (Pb) pada sampel darah, dan mengetahui ketelitian kurva kalibrasi serta konsentrasi timbal (Pb) di udara bebas juga dalam darah pekerja di terminal, sehingga dapat mencegah pencemaran timbal (Pb).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan unsur logam yang berwarna abu kebiru-biruan, lunak, mudah ditempa, mudah dibentuk dan padat. Mempunyai massa atom 207,20 g/mol, nomor atom 82, jari-jari atom 1,75Å, massa jenis 11,48 g/mL, titik lebur 327,5°C (600,65°K), titik didih 1755°C (2028°K), dengan konfigurasi elektron 6s² 6p² bilangan oksidasi +2 dan +4. Keadaan oksidasi Pb yang paling umum ialah +2, dalam larutan ion Pb²⁺ mengalami hidrolisis :



Bila kedalam larutan Pb²⁺ ditambahkan basa (OH⁻), maka yang pertama kali mengendap adalah Pb(OH)₂ dan kemudian larut lagi dalam basa yang berlebih dimana terbentuk ion tetrahidrokoplumbat(II) :



Pb²⁺ juga dapat membentuk kompleks dengan ion-ion halida dengan tetapan kesetimbangan yang bervariasi (Arsyad, 2001) :



Pemeriksaan timbal secara kualitatif dapat dilakukan dengan beberapa reaksi kristal diantaranya (Vogel, 1985) :

2.1.1 Reaksi dengan KI

Larutan yang mengandung timbal (Pb), bila direaksikan dengan Kalium Iodida dapat membentuk kristal spesifik berbentuk endapan dan berwarna kuning (PbI₂ ; timbal iodida), jika berlebih (6 M, KI) dalam jumlah yang berlebihan dapat melarutkan endapan, dan berbentuk ion tetraiodoplumbat(II).





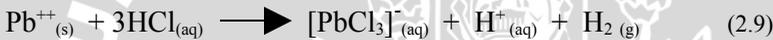
Reaksi ini dapat-balik, ketika diencerkan dengan air, endapan akan muncul lagi.

2.1.2 Reaksi dengan HCl

Larutan yang mengandung timbal (Pb), bila direaksikan dengan HCl 4 N dapat membentuk kristal jarum yang spesifik.



PbCl_2 lama kelamaan larut dalam $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ pekat dengan pembentukan ion kompleks $[\text{PbCl}_3]^-$, setelah itu timbal dapat larut seluruhnya.



Timbal jika dilarutkan dengan asam sulfat encer akan membentuk endapan putih yang sulit larut dalam air :

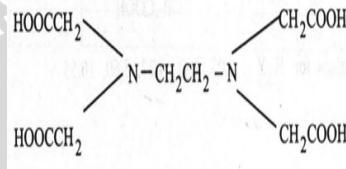
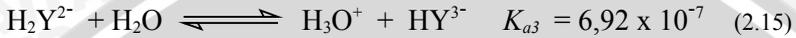


Tetapi bila dilarutkan dalam asam nitrat (HNO_3) dengan konsentrasi 8 M akan mudah melarut dan terbentuk nitrogen oksida :



Jika bereaksi dengan senyawa pengompleks EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) yaitu asam berbasas 4, sering ditulis H_4Y , akan terbentuk kompleks timbal (Pb) dan EDTA dengan konstanta kestabilan EDTA dengan Pb adalah $1,1 \times 10^{18} [\text{Pb}(\text{EDTA})]^{2-}$. Molekul EDTA ini mempunyai enam bagian potensial untuk berikatan dengan ion logam, yaitu 4 gugus karboksil dan 2 gugus amino yang mempunyai elektron bebas, sehingga disebut sebagai ligan heksadentat (Day dan Underwood, 2002). Sebagai asam lemah, EDTA tersebut mengalami pengionan yang bertahap untuk

melepaskan ion H^+ satu persatu dengan konstanta kesetimbangan masing-masing :



Gambar 2.1 Struktur EDTA

EDTA dapat berfungsi sebagai *protective agent* yaitu senyawa yang akan bereaksi dengan analit sehingga analit tidak bereaksi dengan pengganggu. Menurut Vogel (1985) EDTA bereaksi dengan semua logam dengan perbandingan mol 1:1 tanpa tergantung valensinya. Sesuai dengan spesies yang mendominasi (pH tertentu), kompleks logam-EDTA untuk logam divalen dapat ditunjukkan sebagai berikut :



2.2 Destruksi

Analisa menggunakan metoda Spektrofotometri Serapan Atom, mempunyai tahapan proses kerja sebelum pengukuran sampel, dimana sampel diharuskan dibuat dalam bentuk larutan atau terlarut. Pada umumnya sampel-sampel diproses menurut analisisnya yang terdiri dari dua kelompok :

1. Kelompok senyawa terlarut

Untuk kelompok yang mempunyai senyawa terlarut, penetapan kadarnya tidak melalui analisis pendahuluan/preparasi, artinya sampel terlarut atau sampel yang sudah jernih setelah ditambahkan

asam encer, bisa langsung diukur dengan instrumen Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

2. Kelompok senyawa tidak terlarut

Pada kelompok senyawa tidak terlarut, sampel harus melalui analisis pendahuluan, supaya berubah menjadi senyawa terlarut. Preparasi sampel untuk senyawa tidak terlarut dilakukan dengan suatu cara tertentu agar sampel siap untuk diukur.

Metoda untuk preparasi dapat dilakukan dengan cara mendestruksi sampel. Destruksi dapat dikatakan juga sebagai tahapan dekomposisi ataupun degradasi sampel, yang bertujuan untuk penguraian sebagian besar atau sebagian kecil struktur permanen dari suatu molekul menjadi molekul yang lebih sederhana atau atom. Energi panas mempercepat kelancaran dekomposisi. Dekomposisi senyawa dapat dianggap sebagai proses pengrusakan reaksi kimia seperti reaksi hidrolisis, oksidasi, pertukaran ion dan pelarutan.

Menurut Suidiana (1986), metoda dekomposisi (destruksi) dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu :

2.2.1 Destruksi kering (*dry ashing*)

Dekomposisi dengan bahan pelebur, baik asam maupun basa (pengabuan/ *dry ashing*) yang disebut juga sebagai destruksi kering. Destruksi kering dilakukan melalui pemanasan tinggi untuk menghilangkan semua senyawa organik, sehingga merubah sampel menjadi abu. Besarnya suhu yang digunakan sangat tergantung pada titik lebur dari unsur yang akan dianalisis, sebab bila pemanasan/pengabuan dilakukan pada suhu lebih tinggi dari titik leburnya maka selain bebas senyawa organik unsur yang akan dianalisis juga akan ikut menguap. Untuk timbal (Pb) suhu yang digunakan antara 500° - 550° C, tetapi metoda destruksi kering ini kurang baik untuk analisa sampel yang mempunyai titik lebur rendah.

2.2.2 Destruksi basah (*wet digestion*)

Dekomposisi dengan asam, baik asam oksidator (asam nitrat dan asam sulfat pekat) maupun non oksidator, seperti asam flourida dan asam klorida pekat yang disebut sebagai destruksi basah (*wet digestion*). Asam-asam tersebut berfungsi sebagai destruktur yang

umumnya dipakai untuk menghilangkan senyawa organik dari sampel dan sekaligus untuk melepaskan ikatan unsur yang berada dalam sampel sampai sempurna akan diteliti, yang lazimnya adalah asam kuat pekat baik tunggal maupun campuran, destruktur campuran lebih sering digunakan karena lebih kuat daya destruksinya. Kondisi lain yang mendukung metoda ini yaitu destruksi dilakukan pada suhu pendidihan, dan setelah didapat larutan jernih dari sampel, kemudian sisa destruktur dihilangkan dengan melalui cara pengupuan. Adakalanya jika dianggap perlu dapat dilakukan penambahan lagi volume tertentu dari destruktur. Metode destruksi basah ini lebih sering digunakan daripada cara destruksi kering sebab kemungkinan hilangnya komponen yang dianalisis relatif sedikit, terutama untuk unsur-unsur yang mudah menguap.

Destruktor yang digunakan pada penelitian analisis logam timbal (Pb) dalam darah diantaranya :

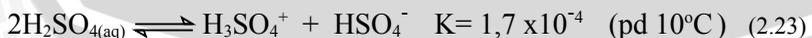
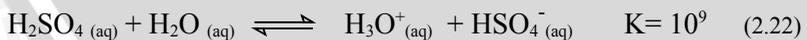
2.2.3 Asam sulfat (H₂SO₄)

Asam sulfat adalah asam kuat yang mempunyai afinitas yang besar sekali terhadap air, mempunyai berat molekul 98,08 g/mol, bobot jenis 1,84 g/mL, titik lebur 10°C (283K), titik didih 337°C (610K) pada 98%, dengan pK_{a1} = 0,4, pK_{a2} = 1,9 dan disebut juga asam diproton karena tiap molekulnya dapat memberikan dua proton, ini terjadi dalam 2 tingkat.

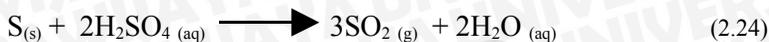


Pada disosiasi asam sulfat tingkat 2 (2.21) termasuk dalam suatu reaksi kesetimbangan tapi hanya 10% dari HSO₄⁻ yang akan terdisosiasi, walaupun demikian asam sulfat dimasukkan ke dalam asam kuat karena disosiasi tingkat pertamanya (2.20) adalah sempurna. Berbagai sifat asam sulfat diuraikan seperti berikut : (Petrucci, 1993)

1. Sifat asam



2. Sifat sebagai pengoksidasi



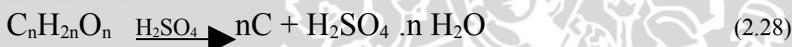
3. Sifat dehidrasi



4. Sifat Sulfonasi



Asam sulfat bukan oksidator yang sangat kuat, namun merupakan dehidrator yang sangat kuat bagi karbohidrat dan zat organik lainnya, seringkali digunakan untuk memecahkan senyawa karbohidrat menjadi unsur karbon (Cotton dan Wilkinson, 1989). Sedangkan dengan protein akan terjadi denaturasi protein yaitu rusaknya sifat fisik dan fisiologik protein, ini hanya merusak ikatan sekunder, tertier dan kuarterner, tetapi struktur primer (ikatan peptida) masih utuh.



2.2.4 Asam klorida

Asam klorida adalah hidrogen halida, dapat dibuat melalui gabungan langsung dari unsur-unsurnya. Mempunyai berat molekul 36,46 g/mol, berat jenis 1,18 g/mL (larutan 37%), titik didih -85,1°C (187,9K), titik lebur -114,2°C (158,8K) dengan pKa -7. Sebagai asam okso halogen, kecuali fluor, unsur halogen dapat membentuk asam yang mengandung oksigen di mana masing-masing halogen mempunyai bilangan oksidasi +1 ; +3 ; +5 dan +7, untuk klorida yaitu asam klorat (VII) atau asam perklorat (HClO₄) (Achmad, 1992).

2.2.5 Asam nitrat

Asam nitrat (HNO₃) adalah asam kuat mempunyai berat molekul 63,01 g/mol, berat jenis 1,51g/mL, titik lebur -42°C (231K), titik didih 83°C (356K) dengan pKa -1,34 (65%) dan senyawa pengoksidasi yang mampu menghasilkan bermacam-macam hasil tereduksi, yang tergantung pada senyawa pereduksi yang dipilih dan konsentrasi asamnya. Larutan asam nitrat kecuali asam kuat bersifat juga sebagai oksidator. Oleh karena itu, logam seperti, Pb, Cu, Ag

dan Hg yang tak begitu larut oleh HCl dan H₂SO₄ encer dapat larut dalam HNO₃ encer dan pekat (Arsyad, 2001).

Reaksi antara Pb dengan asam nitrat pekat adalah sebagai berikut (Brady, 1999) :

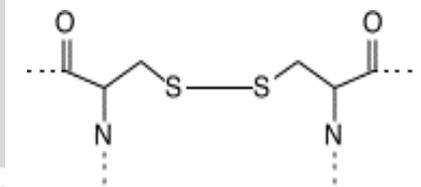


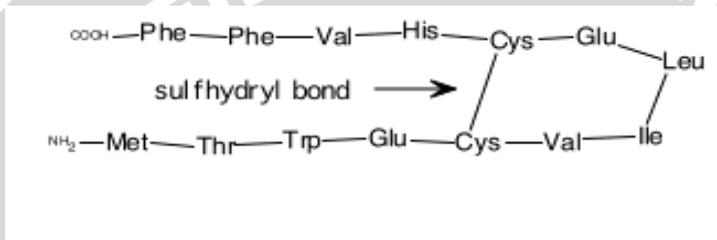
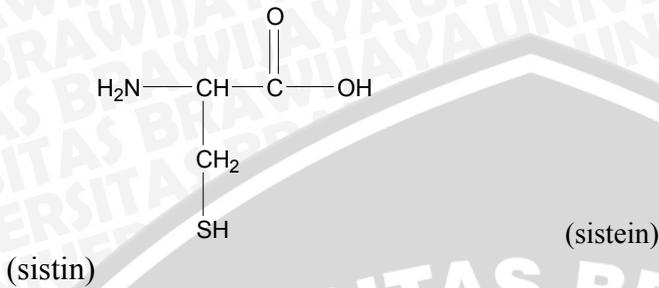
2.3 Absorpsi, distribusi, ekskresi timbal (Pb) dalam tubuh

Timbal yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh sebanyak 95 % Pb dalam darah diikat oleh eritrosit. Sebagian Pb dalam bentuk yang dapat berdifusi dan diperkirakan dalam keseimbangan dalam organ tubuh lainnya, yaitu ke jaringan lunak (sumsum tulang, sistem saraf, ginjal, hati) dan jaringan keras (tulang, kuku, rambut, gigi) (Palar dan O'Neill, 1994). Ekskresi Pb melalui beberapa cara, yang terpenting adalah melalui ginjal dan saluran cerna. Ekskresi Pb melalui urine sebanyak 75 – 80%, melalui feces 15% dan lainnya melalui empedu, keringat, rambut, dan kuku. Ekskresi Pb melalui saluran cerna dipengaruhi oleh saluran aktif dan pasif kelenjar saliva, pankreas dan kelenjar lainnya di dinding usus, regenerasi sel epitel, dan ekskresi empedu (Goldstein dan Kipen, 1994).

2.4 Ikatan timbal (Pb) dalam organ tubuh

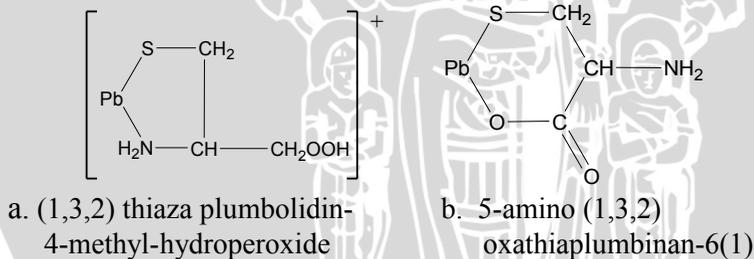
Metalotionein merupakan sekelompok protein kecil yang terdapat dalam sitosol, khususnya sel hati, ginjal dan usus. Protein ini mempunyai sisi aktif sistein yang mempunyai gugus *thiol* (*sulfhydryl-SH*) yang dapat mengikat logam (Murray, *et al.*, 2003). Sedangkan senyawa timbal (Pb²⁺) yang masuk dalam metabolisme organ tubuh digolongkan sebagai asam lemah yang menunjukkan afinitas terbesar terhadap basa-basa lemah seperti S²⁻ ion yang terdapat pada enzim sistein (Miller dan Connell, 2006).





Gambar 2.2 Struktur enzim dengan sisi aktif sistein dan sistin

Struktur enzim dengan sisi aktif sistein (gugus-SH) jika mengalami reaksi dengan timbal (Pb^{2+}) akan membentuk :

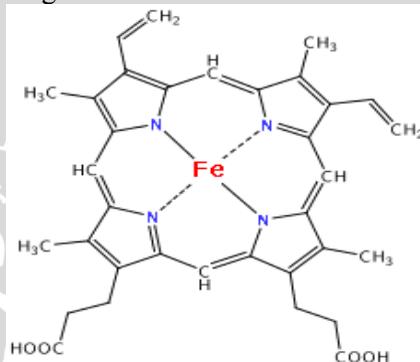


Gambar 2.3 Dua struktur kompleks dari Pb –sistein (Goldstein dan Kipen, 1994).

Gugus karboksil ($-\text{COOH}$) dan amina ($-\text{NH}_2$) juga dapat bereaksi mengikat timbal (Pb) yang terdapat pada sel-sel membran yang dapat menghambat proses transformasi melalui dinding sel. Logam berat timbal (Pb) juga mengendapkan senyawa fosfat biologis atau mengkatalis penguraiannya (Manahan, 1977, di dalam

Marganof, 2003). Pada saat ion logam berat timbal (Pb) tersebar pada permukaan sel, ion akan mengikat pada bagian permukaan sel berdasarkan kemampuan daya affinitas kimia yang dimilikinya, oleh karena itu timbal (Pb) dapat bereaksi membentuk ikatan koordinat dengan ligan yang berbentuk : -OH, -COO⁻, -OPO₃H⁻, -C=O, -SH, -S-S-, -NH₂ dan -NH (Ganiswara, 2005).

Pada sel-sel darah merah (*eritrosit*) yang merupakan suatu bentuk kompleks yang dibentuk oleh logam Fe (besi) yang disebut hemoglobin jika ada timbal (Pb) maka ini akan dapat menghambat enzim ferokelatase sehingga menyebabkan ion Fe tidak dapat berikatan dengan cincin protoporphirin, karena terjadi kompetisi antara timbal (Pb) dengan Fe.



Gambar 2.4 Struktur hem (hemoglobin : C₃₄H₃₂FeN₄O₄).

Akibat dari hal tersebut di atas, maka timbal dapat mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin (Ganiswara, dkk., 2005; Habal, 2002, di dalam Sugiharto, 2004). Keadaan ini sesuai dengan penelitian Juliardi (1999) yang menyebutkan bahwa pemberian larutan timbal dapat mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin.

2.5 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) adalah suatu tehnik analisis untuk menetapkan konsentrasi suatu unsur (logam) dalam suatu sampel dan merupakan suatu metode pengukuran yang didasarkan pada jumlah intensitas sinar yang diserap oleh atom-atom bebas bila sejumlah radiasi yang dilewatkan melalui sistem yang

mengandung atom itu (Narsito, 1996). Analisa dengan cara ini mempunyai keuntungan yaitu peka, teliti, cepat dan relatif sederhana pekerjaannya serta tidak perlu pemisahan unsur logam dalam analisisnya. Proses dalam SSA melibatkan 2 langkah yaitu (Khopkar, 1984) :

1. Atomisasi sampel (proses pembentukan atom-atom).
2. Absorpsi radiasi dari sumber sinar oleh atom bebas.

Sampel yang berupa cairan terlebih dahulu diubah menjadi atom lebih dulu, oleh perangkat atomisasi yang berupa nyala atau tungku grafit. Selama proses absorpsi sinar UV-Vis, atom bebas akan mengalami transisi elektronik dari tingkat energi dasar ke tingkat energi tereksitasi. Banyaknya atom yang mengalami transisi elektronik bergantung pada temperatur, dirumuskan dalam persamaan Boltzmann:

$$\frac{N_j}{N_o} = \frac{P_j}{P_o} \exp\left(-\frac{E_j}{KT}\right) \quad (2.30)$$

Keterangan : N_j = jumlah atom pada tingkat energi tereksitasi

N_o = jumlah atom pada tingkat energi dasar

P_j/P_o = faktor perbandingan statistik yang ditentukan oleh banyaknya tingkat yang mempunyai energi setara untuk atom yang tereksitasi dan 'ground state'.

E_j = perbedaan energi tingkat eksitasi dan tingkat dasar.

K : tetapan Boltzman ($1,38 \times 10^{-16}$ erg/K)

T = temperatur absolut (K)

Atom-atom dari sampel akan menyerap radiasi tadi sesuai dengan konsentrasi sampel tersebut yaitu sesuai dengan populasi atom-atom pada level energi terendah (*ground state*) karena atom-atom tersebut mengalami transisi bila menyerap energi dan energi akan dipancarkan ketika atom tereksitasi kembali ke tingkat energi dasar maka detektor akan mendeteksi energi terpancar tersebut.

Pembentukan atom-atom dari larutan zat yang dihisapkan kedalam pipa kapiler dan disemprotkan ke dalam nyala, melalui tahap-tahap sebagai berikut :

1. Pengkabutan

Larutan cuplikan disemprotkan ke dalam ruangan pengkabutan (*Spray chamber*). Di dalam ruangan ini sebagian larutan menjadi

kabut halus yang diteruskan ke dalam nyala, sebagiannya lagi berupa tetesan-tetesan besar yang jatuh dan keluar dari bagian bawah ruangan ini.

2. Penguapan pelarut (*desolvasi*)

Kabut halus dari cuplikan masuk ke dalam nyala disusul dengan proses penguapan pelarut, sehingga terjadi butir-butir halus padatan cuplikan.

3. Penguraian zat menjadi atom-atom

Setelah cuplikan berupa butir-butir halus padatan, ada dua kemungkinan : pertama, butir-butir padat tersebut langsung terurai menjadi atom-atom unsur yang akan ditetapkan. Kedua, butir-butir padat tersebut berubah dulu menjadi uap kemudian disusul dengan penguraian menjadi atom-atom.

Proses serapan dan pancaran energi tersebut melalui tahap awal yaitu penguapan pelarut, sehingga terbentuk residu padat dari garam. Kemudian terjadi penguapan dari zat padat, selanjutnya zat padat tersebut mengalami disosiasi menjadi atom-atomnya dalam fase gas. Atom-atom ini sebagian besar berada pada tingkat energi dasar (P_0), dan dapat di eksitasi ke tingkat yang lebih tinggi (P_n^*) oleh kuantum energi radiasi yang spesifik. Energi tersebut berasal dari energi cahaya yang panjang gelombangnya sama dengan panjang gelombang cahaya yang dipancarkan unsur tersebut jika turun dari tingkat energi tereksitasi ke tingkat energi dasar. Sehingga bila cahaya dengan panjang gelombang yang sama dengan panjang gelombang dari unsur logam dilewatkan melalui api yang mengandung uap atom logam, maka cahaya yang dipancarkan tersebut akan diserap. Jumlah cahaya yang diserap setara dengan jumlah atom logam dalam keadaan dasar yang terdapat dalam api. Energi panas yang diserap menyebabkan partikel zat menjadi keadaan tereksitasi, partikel zat tereksitasi ini tidak stabil dan segera memancarkan kembali ke keadaan dasar dengan melepaskan energi gejala ini disebut emisi (pemancaran sinar/cahaya), sinar yang diemisikan (dipancarkan) mempunyai panjang gelombang tertentu:

$$\Delta E = h \frac{c}{\lambda} \quad (2.31)$$

$$\lambda = \frac{c}{\nu} = \frac{hc}{\Delta E} \quad (2.32)$$

$$\nu = \frac{[E_o - E_x]}{\hbar} = \frac{\Delta E}{\hbar} \quad (2.33)$$

Dengan keterangan :

ΔE = Energi yang diabsorpsi atom pada waktu terjadi perpindahan antar tingkat energi.

E_o = tingkat energi dasar

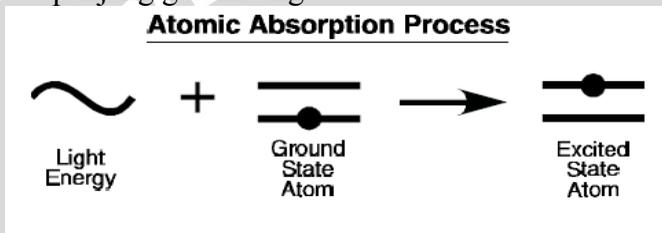
E_x = tingkat energi tereksitasi

c = kecepatan cahaya

ν = frekuensi radiasi

\hbar = tetapan Planck's

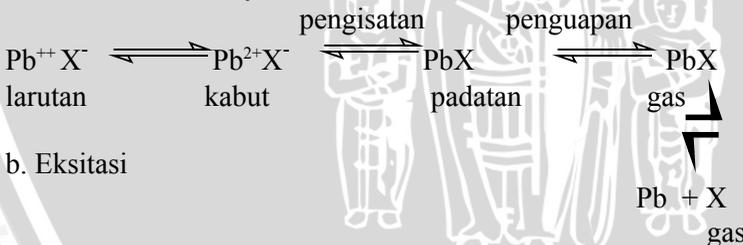
λ = panjang gelombang



Gambar 2.5 Proses absorpsi atom

Menurut Hendayana (1994) untuk diagram proses serapan dan pancaran energi tersebut adalah sebagai berikut :

a. Reaksi di dalam nyala



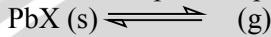
b. Eksitasi



c. Ionisasi $\text{Pb} + \text{Energi} \longrightarrow \text{Pb}^{2+} + 2e$

Prosedur dimana atom-atom gas itu dihasilkan dalam nyala, terjadilah peristiwa berikut secara berurutan dengan cepat yaitu (Basset, *et al.* , 1994) :

- Pengisatan pelarut yang meninggalkan residu padat (hidrolisa hidrat logam).
- Penguapan zat padat dengan disosiasi menjadi atom-atom penyusunnya, yang mula-mula akan berada dalam keadaan dasar. Penguapan pelarut sehingga zat terlarut PbX membentuk partikel-partikel gas.



Pembentukan atom logam gas dari zat terlarut gas :



Reaksi logam gas dengan oksigen dalam nyala membentuk logam oksida.



Logam oksida mengalami reduksi oleh partikel-partikel yang mengandung karbon dalam nyala membentuk atom logam gas. $\text{PbO}_2 + \text{C} \rightleftharpoons \text{Pb}_{(g)} + \text{CO}_2(g)$ (2.36)

Pada persamaan diatas Pb sebagai atom logam, X sebagai bagian yang bukan logam, s sebagai fase padat, g sebagai fase gas.

- Beberapa atom dapat tereksitasi oleh energi termal dari nyala ketinggian-tingkat energi yang lebih tinggi, dan mencapai kondisi dimana akan memancarkan cahaya.

Dalam Spektrofotometri Serapan Atom (SSA), seperti pada spektrofotometri absorpsi yang lain, maka dalam hal ini berlaku pula hukum Lambert-Beer, dimana syarat-syarat dari hukum ini, harus dipenuhi diantaranya ; cahaya yang datang bersifat monokromatis, atom-atom harus berada dalam keadaan stabil secara kimia dalam proses absorpsinya, cahaya yang datang pun harus jatuh tegak lurus pada permukaan medium yang rata dan kadar atom-atom tidak mempengaruhi indeks bias cahaya, dengan demikian sampel harus encer. Pada rumus hukum Lambert-Beer terlihat bahwa absorban merupakan fungsi dari kadar (Sastrohamidjojo, 2001).

$$I_t = I_o e^{-abc} \quad \text{atau} \quad \log \frac{I_t}{I_o} = abc \quad \text{atau} \quad A = abc \quad (2.37)$$

Dengan keterangan :

I_t = intensitas sinar yang diteruskan

I_o = intensitas sinar mula-mula

a = koefisien absorpsi

- b = panjang jalan sinar dalam nyala
- c = konsentrasi atom logam
- A = absorptansi

Ada beberapa gangguan dalam analisis logam menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom, yaitu :

1. Gangguan kimia yang disebabkan ionisasi dan disosiasi tak sempurna dari senyawa-senyawa.
2. Gangguan dari matriks contoh uji yang disebabkan oleh viskositas, larutan, kerapatan jenis larutan, dan sebagainya.
3. Gangguan spektral yang disebabkan adanya unsur logam lain dengan panjang gelombang yang berdekatan dengan panjang gelombang unsur yang dianalisis.

Pembentukan senyawa stabil juga merupakan pengganggu yang dapat menurunkan serapan karena unsur-unsur yang terkandung didalamnya mengalami penghambatan dalam perubahannya menjadi atom-atom tunggal pada temperatur nyala yang digunakan (Price, 1978). Sedangkan gangguan spektral dapat dikurangi dengan pengaturan lebar slit pada alat SSA. Pada pengujian digunakan untuk batas pengukuran konsentrasi timbal antara 0,1 – 12 $\mu\text{g/mL}$ dengan menggunakan alat spektrofotometer serapan atom (SSA) pada panjang gelombang 283,3 nm. Adapun limit deteksi metoda spektrofotometri serapan atom dengan nyala untuk atom Pb adalah 0,1 $\mu\text{g/mL}$ (Khopkar, 1984).

Untuk nyala pada analisa spektrofotometri serapan atom (SSA) dapat digunakan udara asetilen/ nyala nitrous oksida asetilen. Hampir sebagian besar unsur dapat teratomisasi pada tipe nyala ini. Unsur-unsur alkali tanah mempunyai potensial ionisasi rendah yang berarti mudah di ionisasi, karena itu nyala udara asetilen sesuai untuk unsur-unsur ini. Jika unsur-unsur yang sesuai dengan nyala udara asetilen dilakukan analisis dengan nyala N_2O – asetilen maka sensitifitas akan menurun, hal ini dapat disebabkan oleh :

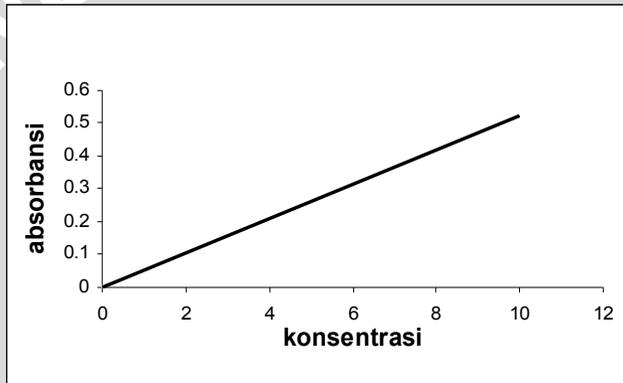
- a. Jumlah atom-atom dalam keadaan tereksitasi bertambah sedangkan atom-atom dalam keadaan dasar menurun.
- b. Jumlah atom-atom yang terionisasi lebih lanjut oleh kenaikan suhu (Nur, 1989).

2.5.1 Penentuan hasil konsentrasi larutan sampel pada metode

Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

2.5.1.1 Penentuan dengan kurva baku

Cara ini digunakan apabila sama sekali tidak ada gangguan atau telah dilakukan usaha-usaha untuk mengatasi, atau meniadakan gangguan-gangguan dan kadar logam yang akan dianalisa dalam sampel, berdasarkan hukum Beet-Lambert, absorbansi sebanding dengan konsentrasi, dan diharapkan akan mendapatkan garis lurus, untuk grafik yang paling baik, dan persamaan regresi $y = ax$ maka kurva kalibrasinya akan tampak seperti gambar berikut :



Gambar 2.6 Grafik kurva baku

2.5.1.2 Penentuan dengan kurva adisi standar

Cara ini digunakan apabila larutan yang diuji mempunyai sifat rumit, atau komponen-komponen lainnya tidak diketahui. Sehingga sulit untuk membuat larutan baku dengan komposisi yang sama dengan sampel. Dalam hal ini harus diketahui terlebih dahulu perkiraan kadar logam dalam sampel, disini ada dua cara yang dapat dilakukan diantaranya : (Van.Loan, 1980. , dan Atikah, 1983).

1. Cara penambahan satu kali (adisi standar tunggal)

Pada cara ini larutan sampel diambil sejumlah tertentu sebanyak dua bagian yang sama, kepada salah satu larutan sampel ditambahkan sejumlah tertentu yang diketahui unsur yang akan ditetapkan, sehingga konsentrasinya menjadi 10- 50% lebih tinggi daripada konsentrasi unsur tersebut dalam larutan sampel. Kemudian

kedua larutan tersebut diencerkan dengan pelarut hingga volumenya sama, dan diukur harga absorbannya. Konsentrasi unsur dalam larutan sampel dihitung dari persamaan :

$$C_x = \frac{A_x C_s V_s}{(A_{s+x} - A_s) V_x} \quad (2.38)$$

Dengan keterangan :

C_x = konsentrasi mutlak unsur yang dianalisa (ppm)

C_s = konsentrasi unsur sama yang ditambahkan

V_x = volume unsur sama yang ditambahkan

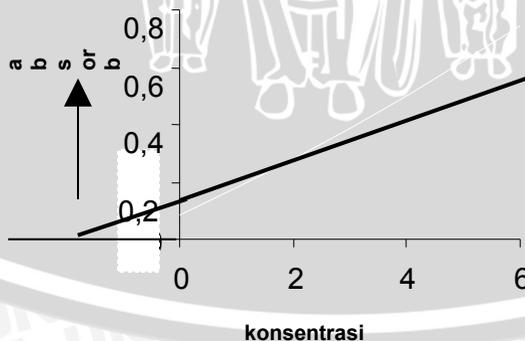
V_s = volume akhir sampel

A_x = absorbansi larutan sampel

$(A_{s+x} - A_x)$ = absorbansi larutan sampel

2. Cara penambahan berganda (adisi standar berganda)

Dari larutan sampel diambil sejumlah tertentu sebanyak tiga – empat sampel yang volumenya sama, kemudian ditambahkan sejumlah tertentu larutan standar dari unsur yang ditetapkan yang diketahui konsentrasinya dan membuat juga larutan sampel yang ditambah larutan blanko. Kemudian ditambah pelarut sampai volume sama dan diukur absorbannya, selanjutnya diukur absorbansi dari masing-masing larutan, maka akan merupakan garis lurus yang memotong sumbu x. Jarak titik potong ini dengan absis pembacaan absorbansi larutan sampel merupakan jumlah unsur yang terbaca dalam sampel tersebut.



Gambar 2.7 Kurva adisi standar

2.6 Hipotesis

Larutan pendestruksi dengan berbagai komposisi asam dan jenis asam mempengaruhi hasil konsentrasi pengukuran timbal (Pb^{2+}).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang kandungan timbal(Pb) dilaksanakan pada bulan Juni - Oktober 2007, di Laboratorium Kesehatan Banjarmasin dan Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas yang lazim digunakan dalam analisis kimia, jarum suntik sekali pakai (*disposable syringe*); Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) tipe AA 6200 dari *Shimadzu*; lampu katoda berongga Pb (*hallow cathoda*) model *KK Photonic Hamamatsu* ; timbangan analitik model 14213254 *AND*; Oilbant tipe 9G1994 *Shibata*; Oven tipe 01115250 *Binder* ; hot plate (kompor listrik) tipe *GMGH 915633 Schott Gerate*; pengisap debu (*High Volume Air Sampler /HVAS*) tipe 9Y8029 *Shibata*.

3.2.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan kimia yang digunakan dengan derajat kemurnian pro analisis (pa), meliputi : HCl (37%(v/v), bj 1,19 g/mL), HNO_3 (69,6%

(v/v), bj 1,41 g/mL), H₂SO₄ (95-97% (v/v), bj 1,84 g/mL), H₂O₂ (30% (v/v), bj 1,11 g/mL), Na₂EDTA, CH₃COOH (100% (v/v), bj 1,05 g/mL), CH₃COONa, gas Asetilen (99,7%), udara kering, akuademineralisata, minyak mineral (kopra), kertas saring *fiberglass* tipe 8013-031(20,3 x 25,4 cm) dan kertas saring Whatman nomer 42. Sampel darah yang tidak mengandung timbal (Pb) diambil dari PMI kota Banjarmasin. Sampel darah Pb diambil dari 10 pekerja laki-laki dewasa yang bekerja di terminal, diambil pagi hari (jam 08.00 - 10.00 wit). Sampel debu Pb diambil dari udara bebas terminal Banjarmasin pada pagi hari (jam 07.00 wit) hingga sore hari (jam 18.00 wit) di terminal kota yang diambil tanggal 10 dan 12 Juni 2007.

Larutan destruksi digunakan dengan komposisi sebagai berikut :

D1 = larutan HNO_{3p}

D2 = larutan HNO_{3p} : HCl_p (1:1)

D3 = larutan HNO_{3p} : HCl_p (1:2)

D4 = larutan HNO_{3p} : H₂SO_{4p} (1:1)

D5 = larutan HNO_{3p} : H₂SO_{4p} (1:2)

3.3 Tahap Penelitian

1. Preparasi sampel *Spike* dan *Spike* darah menggunakan berbagai komposisi larutan destruksi D1 hingga D5.
2. Menentukan kondisi destruksi optimum sampel *Spike* dan *Spike* darah menggunakan kurva baku.
3. Menentukan efesiensi kurva kalibrasi Pb secara kurva baku dan adisi standar (adisi standar berganda).
4. Penentuan kadar Pb dalam sampel darah pekerja dan sampel timbal udara bebas terminal Banjarmasin.
5. Interpretasi data hasil analisis.

3.3.1 Pengambilan sampel darah.

Sampel spesimen darah diambil melalui pembuluh darah *ante-cubital-fassa* (vena cubiti/vena lengan) menggunakan jarum suntik steril sebanyak 4 mL kemudian dimasukkan ke dalam wadah (*vial*) yang telah diisi dengan anti koagulan garam EDTA 1,0 – 1,5 mg/mL darah selanjutnya disimpan dalam lemari es pada suhu 2-8°C (Nendrosuwito, dkk., 2003).

3.3.2 Pengambilan sampel Pb dari partikulat debu (TSP) di udara bebas.

Sampel debu Pb diambil dari lokasi sampling terminal Banjarmasin selama 12 jam dengan interval 4 jam pengambilan masing-masing selama 60 menit menggunakan alat *HVAS*. Menurut prinsip pengambilan partikulat di udara bebas menggunakan metode gravimetri, yang di hisap melalui *filter fiberglass* dengan kecepatan alir 1,1 - 1,7 m³/menit. Partikulat tersuspensi berdiameter < 100 μ meter akan terhisap dan tertahan dipermukaan filter, kemudian diambil di timbang dalam wadah sampel dan di beri tanda. Data kecepatan alir pada awal dan akhir penghisapan juga data meterologi tercatat (Lampiran 3.3).

3.3.3 Preparasi sampel *spike* dan *spike* dalam darah secara kurva baku.

3.3.3.1 Perlakuan larutan destruksi asam sampel *spike* dengan konsentrasi : 2 ; 4 dan 6 ppm.

Larutan baku 10 ppm timbal (Pb²⁺) dipipet masing-masing 10 mL, 20 mL dan 30 mL, dimasukkan ke dalam labu destruksi 100 mL. Kemudian masing-masing ditambah 3 mL larutan destruksi (D₁, D₂, D₃, D₄ dan D₅), dibiarkan pada suhu kamar (25°C) hingga tercampur homogen dan diencerkan dengan akudeminalisata sampai batas tanda pada labu ukur 50 mL. Blanko sampel *Spike* diperlakukan dari aquademinalisata tanpa penambahan larutan standar Pb dan diukur bersama kurva baku dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.3.2 Perlakuan larutan destruksi asam sampel *spike* dalam darah dengan konsentrasi : 2 ; 4 dan 6 ppm.

Sampel darah dari PMI dipipet sebanyak 3 mL, ditambahkan masing-masing 2 mL; 4mL dan 6 mL larutan baku dari 10 ppm timbal (Pb²⁺) , kemudian ditambahkan 3 mL masing-masing larutan destruksi asam (D₁, D₂, D₃, D₄ dan D₅) ke dalam labu destruksi dan dibiarkan 24 jam pada suhu kamar (25°C) hingga tercampur homogen. Kedalam masing-masing tabung ditambahkan 10 mL akudeminalisata, dan dipanaskan pada penangas minyak suhu 110°C sampai jernih dan didinginkan, disaring kemudian diencerkan pada labu ukur 50 mL sampai tanda batas menggunakan

akudeminalista. Larutan blanko dibuat dari masing-masing larutan destruksi dengan memipet 3 mL darah tanpa penambahan larutan baku Pb, ditambahkan 3 mL larutan destruksi asam dari D1 sampai D5, dan diperlakukan sama dengan sampel. Pada sampel yang menggunakan larutan destruksi asam yang mengandung sulfat khususnya D4 dan D5, ditambahkan larutan Na-EDTA masing-masing sampel *Spike* 2 ppm = 1,5 mL; 4 ppm = 3 mL dan 6 ppm = 4,5 mL dari 100 ppm EDTA dan juga ditambahkan bufer asetat hingga pH 4,6 dan diukur bersama kurva baku dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.3.3 Pembuatan kurva Baku.

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan cara membuat sederetan larutan baku timbal (Pb^{2+}) yaitu 0 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8 dan 10 ppm. Pengukuran kurva baku untuk larutan destruksi D4 dan D5 masing-masing mengandung larutan EDTA ditambah bufer asetat hingga pH 4,6 juga untuk kurva baku dengan rentang ; 0 ; 2 ; 4 dan 6 ppm Pb yang diukur dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.4 Penentuan pengukuran kurva baku dan kurva adisi standar.

3.3.4.1 Pembuatan sampel *spike*.

Membuat larutan sampel (*spike*) yang mempunyai konsentrasi 2 ppm dan 4 ppm Pb dengan dipipet dari larutan baku timbal (Pb^{2+}) 10 ppm, sebanyak 10 mL dan 20 mL diencerkan dengan aquademineralisata pada labu ukur 50 mL sampai tanda batas.

3.3.4.2 Pengukuran dengan kurva baku.

Penentuan hasil konsentrasi dengan kurva baku menggunakan kurva baku dengan rentang : 0 ; 2 ; 4 dan 6 ppm timbal (Pb^{2+}) sebagai blanko digunakan aquademineralisata dan diukur bersama kurva baku dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.4.3 Pengukuran dengan kurva adisi standar.

Penentuan sampel dengan cara penambahan standar berganda (adisi) dengan membuat 4 larutan sampel dengan volume yang sama (15 mL), kemudian masing-masing sampel ditambahkan larutan baku : 0 ; 2; 4 dan 6 ppm, dan diencerkan dengan aquademineralisata pada

labu ukur 50 mL diukur secara kurva adisi dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.5 Preparasi sampel darah pekerja terminal.

Sebanyak 3 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung *Nessler* dan ditambahkan 3 mL larutan destruksi yang menghasilkan pengukuran yang optimum, kemudian dibiarkan 24 jam pada temperatur kamar (25°C). Setelah itu ditambahkan aquedeminelalisata sebanyak 10 mL dipanaskan pada suhu 110 °C menggunakan penangas minyak sampai larutan jernih. Jika larutan sudah dingin, disaring dan diencerkan dengan aquedemineralisata pada labu 25 mL sampai batas tanda, yang sebelumnya dilakukan penambahan bufer asetat hingga pH 4,6 kemudian diukur dengan kurva adisi dengan penambahan masing-masing larutan baku (standar): 0 ; 2 ; 4; 6 ppm timbal (Pb^{2+}) yang masing-masing ditambahkan 5 mL sampel dan diencerkan dengan akudeminalisata sampai tanda batas pada labu ukur 25 mL yang diukur dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.6 Preparasi sampel Pb di udara bebas.

Sampel filter fiberglass dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam *beakerglass* 250 mL, dan ditambah 60 mL HCl (1:2), kemudian ditambah 5 mL H_2O_2 dan ditutup dengan kaca arloji. Selanjutnya dipanaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam pada temperatur 105°C. Setelah dingin di tambah kembali 5 mL H_2O_2 dan dilanjutkan pemanasan selama 30 menit, kemudian setelah dingin disaring, *filtrat* dipanaskan sampai mendekati keadaan kering. Didinginkan, ditambah 20 mL HNO_3 (2:98), dipanaskan kembali sampai seluruh residu terlarut. Kemudian dipindahkan ke labu ukur 50 mL, di encerkan dengan HNO_3 (2:98) sampai tanda batas. Blanko dibuat dari kertas *filter fiberglass* dengan perlakuan yang sama seperti preparasi sampel. Pengukuran menggunakan kurva adisi standar dengan penambahan masing-masing larutan baku (standar): 0; 2; 4; 6 ppm Pb dengan masing-masing penambahan 10 mL sampel diencerkan dengan akudeminalisata sampai tanda batas pada labu ukur 25 mL yang diukur dengan SSA pada λ 283,3 nm.

3.3.7 Kondisi optimum alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

Kondisi optimum Spektrofotometer Serapan Atom untuk pengukuran serapan timbal (Pb) menggunakan lampu *katoda* berongga Pb sebagai sumber radiasi dengan panjang gelombang maksimum 283,3 nm, lebar slit 0,7 nm dari nyala api dari suatu pembakar (*flame/burner*) campuran oksidan (udara kering) dan bahan bakar (gas asetilen) masing-masing dengan aliran 8 L/menit dan 2 L/menit pada suhu nyala 2050 - 2300°C waktu pengatoman 10 - 5 detik. Hasil pengukuran dibuat kurva hubungan antara konsentrasi (ppm) sebagai sumbu x dengan absorbansi sebagai sumbu y, sehingga diperoleh persamaan regresi linier (3.5) untuk kurva baku dan kurva adisi (3.6).

3.4 Penentuan konsentrasi timbal (Pb)

3.4.1 Perhitungan timbal (Pb) dalam darah.

Untuk menghitung konsentrasi timbal (Pb) dalam darah menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\frac{1000}{\text{vol. darah}} \times \frac{\text{vol.akhir}}{1000} \times C_{SSA} = \text{mg/L}$$
 yang dikonversikan menjadi $\mu\text{g/L}$ kemudian dijadikan $\mu\text{g/dL}$ dengan menghitung konsentrasi Pb yang didapatkan dari pengukuran kurva kalibrasi (kurva baku dan adisi standar) dan juga faktor pengenceran jika ada pada sampel.

3.4.2 Perhitungan Partikulat (TSP/Debu).

Untuk menghitung volume udara sampel digunakan rumus perhitungan sebagai berikut (Anonim, 1998) :

$$V = \frac{F_1 + F_2}{2} \times t \times \frac{P_a}{T_a} \times \frac{298}{101,3} \quad (3.2)$$

Dimana :

V = volume udara terambil , m³

F₁ = laju alir awal, m³/menit

F₂ = laju alir akhir, m³/menit

T = waktu pengambilan contoh uji, menit

P_a = tekanan barometer rata-rata selama pengambilan contoh uji (kPa)

T_a = temperatur rata-rata selama pengambilan contoh uji

298 = temperatur pada kondisi normal 25 °C (K)
101,3 = tekanan pada kondisi normal 1 atm (kPa)

Dari hasil volume sampel udara yang didapat digunakan untuk menghitung berat dari partikel tersuspensi (debu) dan rumus perhitungannya adalah (Anonim, 1998) :

$$S.P = \frac{(Wf - Wi)}{V} \times 10^6 \quad (3.3)$$

Dimana : S.P = kadar massa partikel tersuspensi, ug/m³
Wi = berat filter awal, g
Wf = berat filter akhir, g
V = volume contoh uji udara, m³
10⁶ = konversi g ke μ

Selanjutnya untuk menghitung konsentrasi timbal (Pb) yang terdapat pada partikulat (TSP/Debu) dengan menggunakan volume udara dari sampel partikulat, memperhitungkan luas dari kertas filter, blanko dari kertas filter fiberglass dan konsentrasi timbal (Pb) yang didapat dari pengukuran dengan Spektrofotometer Serapan Atom menggunakan kurva adisi standar yang juga memperhitungkan faktor pengenceran sampel jika ada sehingga rumus perhitungannya adalah (Anonim, 2005) :

$$C_{Pb} = \frac{(C_t - C_b) \times V_t \times \frac{S}{S_t}}{V} \quad (3.4)$$

Keterangan :

C_{Pb} = kadar timbal di udara (ug/ m³)
C_t = kadar timbal dalam larutan tes (mg/L)
C_b = konsentrasi timbal dalam larutan blanko (mg/L)
V_t = volume larutan tes (ml)
S = luas contoh pada permukaan filter
S_t = luas contoh yang digunakan
V = volume udara yang dihisap pada kondis 25^oC, 1 atm (M³)

Catatan : volume udara yang dihisap dihitung berdasarkan perhitungan pada saat sampling partikulat tersuspensi di udara *ambient*/bebas.

3.5 Analisa Data

3.5.1 Penentuan persamaan regresi kurva kalibrasi.

Untuk mengetahui hubungan antara X (konsentrasi) dan Y (serapan), apakah linier atau tidak, dinyatakan dengan keragaman derajat korelasi atau koefisien korelasi (R) dan nilai kuadrat (R^2) adalah koefisien penentu sebagai taksiran kekuatan kaitan antara X dan Y yang berkorelasi yaitu

$$R^2 = \frac{(n \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i)^2}{(n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2)(n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2)} \quad (3.5)$$

Untuk sensitivitas (presisi) kalibrasi adalah slope kurva (a) dan konsentrasi limit deteksi menggunakan persamaan $C_L = k \cdot S_B/m(a)$.

3.5.1.1 Penentuan menggunakan kurva baku.

Pembuatan kurva baku yang mempunyai hubungan antara konsentrasi dengan serapan digunakan regresi yang dinyatakan sebagai $y = ax$ dimana y dan x adalah serapan dan konsentrasi larutan, sedang a ditentukan dengan persamaan :

$$a = \frac{\sum X_i Y_i}{\sum X_i^2} \quad (3.6)$$

3.5.1.2 Penentuan menggunakan kurva adisi standar.

Adisi standar yang digunakan adalah adisi berganda yang mana membuat kadar kurva baku untuk standar yang ditambahkan sampel yang akan diamati. Besarnya kadar baku yang ditambahkan sama atau dua kali lebih besar dari yang dibuat kurva, dalam hal ini hubungan antara konsentrasi dengan serapan digunakan regresi yang dinyatakan sebagai $y = ax + b$ dimana y dan x adalah serapan dan konsentrasi larutan, sedang a ditentukan dengan persamaan :

$$b = \bar{y} - a\bar{x} \quad a = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (3.7)$$

3.5.2 Penentuan uji F untuk sampel *spike* dan *spike* dalam darah.

Pada data sampel *spike* dan *spike* darah dilakukan analisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) untuk mengetahui pengaruh destruksi asam dari tiap perlakuan dengan uji F (ANOVA) pada taraf nyata 5%. Apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) $\alpha = 5\%$ untuk mengetahui perlakuan

mana yang memberikan nilai optimum dengan pola sebagai berikut (Yitnosumarto, 1993) :

Perlakuan (i)	Kelompok (j)			$\sum_{j=1}^r Y_{ij} = Y_{i.}$
	1	2	3	
1	Y_{11}	Y_{12}	Y_{13}	$Y_{1.}$
2	Y_{21}	Y_{22}	Y_{23}	$Y_{2.}$
3	Y_{31}	Y_{32}	Y_{33}	$Y_{3.}$
4	Y_{41}	Y_{42}	Y_{43}	$Y_{4.}$
5	Y_{51}	Y_{52}	Y_{53}	$Y_{5.}$
$\sum_{i=1}^p Y_{ij} = Y_{.j.}$	$\sum Y_{.1}$	$\sum Y_{.2}$	$\sum Y_{.3}$	$Y_{..}$

Dimana : 1,2,3,.....,p = perlakuan variable konsentrasi *spike*
 : 1,2,.....,r = kelompok konsentrasi *spike*
 : $Y_{11}, Y_{12}, \dots, Y_{pr}$ = hasil rata-rata pengukuran *spike*

Untuk analisis sidik ragam berdasarkan rancangan acak kelompok, maka dapat dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

Menghitung faktor koreksi :

$$FK = \frac{Y^2}{rp} \quad (3.8)$$

Menghitung jumlah kuadrat (JK) :

$$a. \quad JK_{\text{total}} = \sum_i \sum_j Y_{ij}^2 - FK \quad (3.9)$$

$$b. \quad JK_{\text{perlakuan}} = \frac{\sum_j (\sum_i Y_{ij})^2}{r} - FK \quad (3.10)$$

$$c. \quad JK_{\text{kelompok}} = \frac{\sum_j (\sum_i Y_{ij})^2}{p} - FK \quad (3.11)$$

$$d. \quad JK_{\text{Galat Percobaan}} = JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Kelompok}} \quad (3.12)$$

Menghitung kuadrat tengah (KT) setiap sumber keragaman :

$$a. \quad KT_{\text{perlakuan}} = \frac{JK_{\text{perlakuan}}}{dB_{\text{perlakuan}}} \quad (3.13)$$

$$b. \quad KT_{\text{kelompok}} = \frac{JK_{\text{kelompok}}}{dB_{\text{kelompok}}} \quad (3.14)$$

$$c. \quad KT_{\text{galat}} = \frac{JK_{\text{galat}}}{dB_{\text{galat}}} \quad (3.15)$$

Menghitung nilai F :

$$F_{\text{hitung perlakuan}} = \frac{KT_{\text{perlakuan}}}{KT_{\text{galat}}} \quad (3.16)$$

$$F_{\text{hitung kelompok}} = \frac{KT_{\text{kelompok}}}{KT_{\text{kelompok}}} \quad (3.17)$$

Setelah jumlah kuadrat total, perlakuan dan galat dihitung dapat dibuat analisis uraian seperti yang diperlihatkan pada tabel berikut :
Tabel 3.1 Analisis ragam dua arah

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F _{hitung}
Perlakuan	p-1	JK _p	KT _p	KT _p /KT _g
Kelompok	r-1	JK _k	KT _k	KT _k /KT _g
Galat	(p-1)(r-1)	JK _g	KT _g	
Total	pr -1	JK _t		

Keterangan : p = jumlah perlakuan dB = derajat Bebas
r = jumlah kelompok

Untuk menghitung beda nyata terhadap perlakuan, maka dibuat hipotesis nol (H₀) dan hipotesis alternatif (H₁) sebagai berikut:

H₀ = tidak ada pengaruh tiap perlakuan

H₁ = minimal 1 pasang pengaruh perlakuan menunjukkan perbedaan.

Jika F_{hitung} > F_{tabel} maka H₀ ditolak, berarti ada perbedaan nyata perlakuan maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) 5%, untuk mengetahui perlakuan yang memberikan nilai optimum, juga Koefisien Keragaman (KK) yang merupakan koefisien yang menunjukkan derajat presisi atau akurasi dari kesimpulan yang diperoleh dan merupakan deviasi baku perunit percobaan dengan batas percobaan kimia KK < 5% dengan langkah

$\left[(KT_{galat})^{0,5} / \bar{Y} \dots \right] \times 100\%$, dan menentukan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan tahapan sebagai berikut :

$$BNT\ 5\% = t_{tabel}^{0,05/2}(db_{Galat}) \times \sqrt{(2 \times KT_{Galat} / n)} \quad (3.18)$$

1. Menghitung beda rata-rata antar perlakuan
2. Menarik kesimpulan
 - a. Jika $BNT(\alpha) < (X_A - X_B)$ berarti ada beda nyata
 - b. Jika $BNT(\alpha) > (X_A - X_B)$ berarti tidak ada beda nyata

3.5.3 Penentuan uji-t kurva baku dan kurva adisi standar.

Uji t (keberartian) dilakukan untuk mengetahui apakah metode memiliki ketelitian yang berarti. Hipotesis nol (H_0) menyatakan bahwa kedua metoda memberikan hasil yang sama atau tidak berbeda nyata dengan rumus persamaan sebagai berikut : (Miller dan Miller, 1991)

$$Sp^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (\text{nilai dugaan gabungan}) \quad (3.19)$$

$$t_{\text{hitung}} = \frac{(\bar{x}_a - \bar{x}_b) - d_0}{Sp \sqrt{1/n_b + 1/n_a}} \quad (3.20)$$

3.5.1.4 Penentuan statistik untuk sampel.

Dua istilah yang dihubungkan dengan mutu suatu data pengujian adalah ketepatan (akurasi) dan ketelitian (presisi). Ketepatan menunjukkan seberapa dekat nilai pengujian yang diperoleh atau rata-ratanya dengan nilai benar. Suatu nilai pengujian yang mempunyai kesalahan sistematik kecil disebut memiliki ketepatan yang tinggi. Uji akurasi dilakukan dengan menghitung persen kesalahan terlebih dahulu menggunakan persamaan berikut (Skoog, *et al.*, 1988) :

$$\% \text{kesalahan} = \frac{x_i - \bar{x}_i}{x_i} \times 100\% \quad (3.21)$$

$$\% \text{ Akurasi} = 100\% - \% \text{ kesalahan} \quad (3.22)$$

keterangan :

x_i = nilai data sampel ke i

\bar{x} = rata-rata sampel yang diperoleh dari pengukuran

Untuk persen perolehan kembali (% recovery) menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% R = \frac{A - B}{C} \times 100\% \quad (3.23)$$

keterangan :

R = % perolehan kembali

A = kadar larutan sampel yang di *spike* (mg/L)

B = kadar larutan sampel yang tidak di *spike* (mg/L)

C = kadar standar teoritis (*target value*) (mg/L)

Ketelitian (presisi) digunakan untuk menunjukkan seberapa jauh nilai hasil pengujian suatu ulangan dengan ulangan lainnya. Suatu nilai pengujian yang mempunyai kesalahan acak kecil disebut mempunyai kecermatan yang tinggi. Uji presisi dilakukan dengan menghitung standar deviasi (simpangan baku) terlebih dahulu menggunakan persamaan berikut (Miller dan Miller, 1991) :

$$\% SD = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}} \times 100\% \quad (3.24)$$

$$\% \text{ Presisi} = 100\% - \% SD \quad (3.25)$$

keterangan :

SD = Standar Deviasi (simpangan baku)

\bar{x} = nilai pengamatan rata – rata

x_i = nilai data ke i

n = banyaknya data sampel

Dalam membandingkan tingkat variasi beberapa distribusi hendaknya rata-rata distribusi digunakan sebagai dasar variasinya. Maka digunakan koefisien variasi (CV) yang merupakan ukuran variasi relatif dan batas kepercayaan rata-rata dengan persamaan sebagai berikut (Supramono dan Sugiarto, 1990) :

$$\% CV = \frac{SD \times 100}{\bar{X}} \quad (3.26)$$

keterangan :

CV = Koefisien variansi

SD = Standar deviasi (simpangan baku)

\bar{x} = nilai pengamatan rata-rata

$$\text{Batas Kepercayaan } (\mu) \text{ 95\%} = \bar{x} \pm t (s) / \sqrt{n} \quad (3.27)$$

keterangan : μ = interval kepercayaan
SD (s) = standar deviasi (simpangan baku)
t = nilai t tabel
n = banyaknya data sampel
 \bar{X} = nilai pengamatan rata – rata

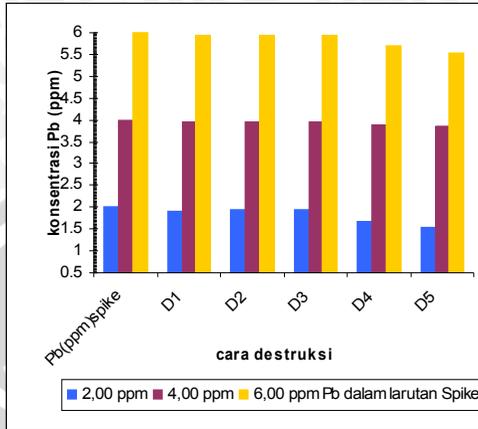
Semakin kecil nilai koefisien variasi (CV) yang diperoleh maka nilai variasi dari kumpulan nilai pengamatan semakin kecil atau nilai-nilai pengamatan semakin homogen, sebaliknya semakin besar nilai koefisien variasi (CV) yang diperoleh maka nilai variasi dari kumpulan nilai pengamatan semakin besar atau nilai-nilai pengamatan semakin heterogen (Dajan, 1986).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses destruksi sampel digunakan agar komponen-komponen yang akan dianalisis terlepas dari matriks senyawa-senyawa lain. Destruksi menggunakan asam kuat sering digunakan dalam dekomposisi penanganan sampel, reaksi yang terjadi, selain redoks juga reaksi hidrolisis yang dipacu dengan adanya asam yaitu reaksi asidolisis yang lebih menekankan pada peran ion H^+ yang berasal dari pemprotonan asam dan kompleksolisis menekankan peran sisa asam.

4.1 Pengaruh beberapa larutan destruksi pada sampel *spike*.

Berdasarkan data penelitian berbagai macam larutan destruksi asam (Pb) pada Tabel Lampiran 3. , dibuat grafik hasil pengukuran sampel *spike* pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Pengaruh perbandingan larutan asam terhadap hasil destruksi *spike*.

Keterangan : D1 = larutan HNO_{3p}

D2 = larutan $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:1)

D3 = larutan $\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:2)

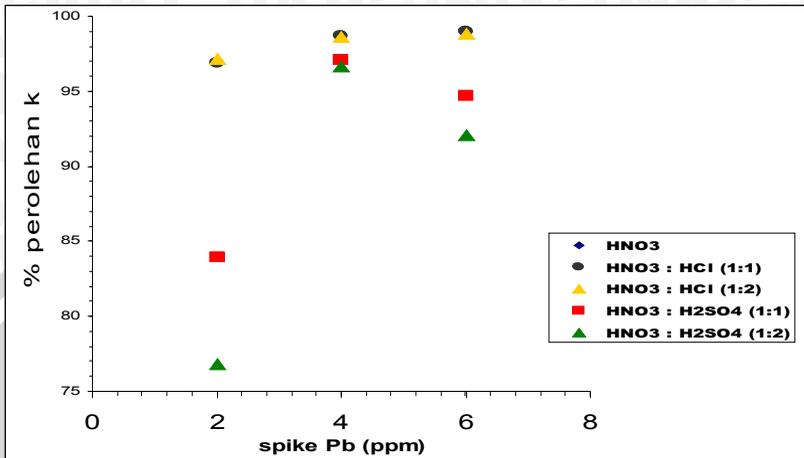
D4 = larutan $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:1)

D5 = larutan $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:2)

Tabel 4.1 Hasil pengukuran dari sampel *spike*

Pb <i>spike</i>	2 ppm	4 ppm	6 ppm
Larutan Destruksi			
HNO_{3p}	1,9383 ± 0,04	3,9557 ± 0,02	5,9304 ± 0,02
$\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:1)	1,9374 ± 0,03	3,9466 ± 0,03	5,9405 ± 0,03
$\text{HNO}_{3p} : \text{HCl}_p$ (1:2)	1,9429 ± 0,04	3,9440 ± 0,05	5,9297 ± 0,06
$\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:1)	1,6788 ± 0,05	3,6777 ± 0,02	5,6853 ± 0,01
$\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p}$ (1:2)	1,5357 ± 0,05	3,5071 ± 0,03	5,5243 ± 0,04

Untuk hasil perolehan kembali (% *recovery*) disajikan pada Gambar 4.2 sebagai berikut :



Gambar 4.2 Hasil perolehan kembali (% recovery) sampel *spike* Pb dengan perbandingan larutan destruksi asam.

Dari Gambar 4.1 ; 4.2 , dan Tabel 4.1 juga data Tabel Lampiran 3.1 menunjukkan bahwa larutan destruksi mempengaruhi hasil konsentrasi timbal (Pb) pada masing-masing sampel *spike* dan dapat dinyatakan untuk larutan destruksi yang terbaik (optimum) sampel *spike* adalah larutan destruktur HNO_{3p} (D1) , HNO_{3 p}:HCl_p (1:1) (D2) dan HNO_{3 p}:HCl_p (1:2) (D3) dengan *recovery* rata-rata 98,72%. Hasil ini didukung oleh uji statistik menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Tabel L.5). Dari uji statistik didapatkan nilai $F_{hitung\ perlakuan}$ (51,35) adalah lebih besar dari F_{tabel} pada $dB = 4$ dan α 0,05 (3,838). Ini menunjukkan bahwa ada pengaruh perbedaan yang nyata dari tiap perlakuan destruksi yang berarti juga setiap perlakuan destruksi mempunyai perbedaan terhadap setiap kelompok karena $F_{hitung\ kelompok}$ (9074) juga lebih besar dari F_{tabel} pada $dB = 2$ dan α 0,05 (4,459) dan hasil uji beda nyata terkecil (BNT) ada pada HNO_{3p} (D1), HNO_{3 p}:HCl_p (1:1) (D2) dan HNO_{3 p}:HCl_p (1:2) (D3), ketiganya tidak berbeda nyata secara statistik. Hal ini dapat terjadi karena kereaktifan asam ditentukan oleh gugus fungsionalnya yang dapat mengalami disosiasi sehingga dapat melepaskan proton (H⁺), makin besar tetapan ionisasi makin kuat asam itu. Pada larutan asam nitrat (HNO₃) selain asam kuat ($pK = -1,34$) juga bersifat sebagai oksidator, oleh karena itu

logam timbal dapat larut dalam HNO₃ encer dan pekat (Reaksi :2.29).

Pb + HNO₃ pekat :



Dimana konsentarsi 2, 4 dan 6 ppm timbal (Pb) masing-masing mengandung 0,0097 ; 0,0193 dan 0,0290 mmol Pb. Banyaknya mol HNO_{3p} (15,6 M) yang digunakan untuk destruksi pada volume akhir dari larutan sampel hasil destruksi 50 mL adalah 0,936 mol/L ; 0,468 mol/L untuk perbandingan 1:1 dan 0,312 mol/L HNO₃ pada perbandingan 1:2 . Larutan destruksi HNO_{3p}: HCl_p (1:1) mengalami tahapan reaksi sebagai berikut :



Untuk larutan HCl (37% = 12,1 M) dalam air adalah asam kuat (pK= -7), juga dapat bereaksi dengan semua oksida-basa. Pada konsentrasi 0,363 mo/L(HCl) dari perbandingan 1:1 volume akhir 50 mL, bersama dengan larutan destruktur HNO_{3p} justru mampu melarutkan timbal (Pb) lebih baik dibandingkan dengan larutan destruksi HNO_{3p}: HCl_p(1:2) dimana konsentrasi larutan destruktur asam klorida (HCl) lebih banyak (0,484 mol/L) sehingga konsentrasi perolehan kembali yang didapat lebih rendah dari perbandingan 1:1 untuk sampel *spike* 4 dan 6 ppm tetapi untuk *spike* 2 ppm D3 lebih tinggi (Tabel 4.1 dan Lampiran 3.1). Pada larutan destruksi D4 dan D5 yang terdiri dari campuran larutan destruktur asam nitrat dan asam sulfat [HNO_{3p} : H₂SO_{4p}] dapat membentuk senyawa timbal sulfat (Reaksi 2.10) dengan konsentrasi 1 : 1 terdapat 0,54 mol/L H₂SO_{4p} dan perbandingan 1:2 sebanyak 5,56 mol/L dari H₂SO_{4p} (18 M), hal ini dapat merendahkan hasil pengukuran yang tercantum pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2 (Tabel L. 3.1) dan reaksi yang terjadi diantaranya :

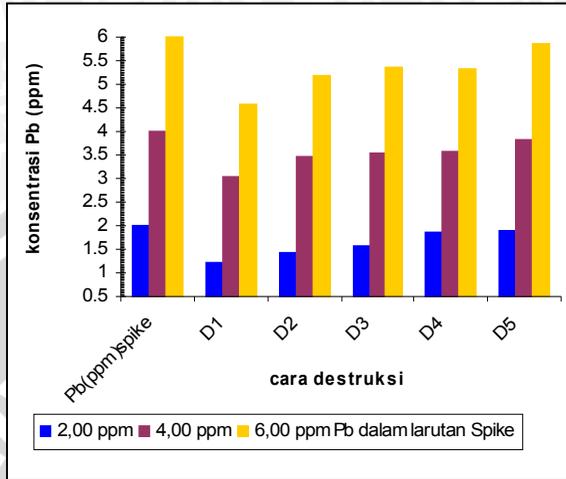


Konsentrasi Pb akan turun dengan bertambahnya sulfat (D4 dan D5), hal ini disebabkan karena Pb dari larutan akan bereaksi dengan sulfat membentuk PbSO₄ (Reaksi 2.10). Dalam larutan sampel unsur

logam timbal (Pb^{2+}) akan terdisosiasi menjadi atom netral, selanjutnya atom bebas timbal (Pb) menyerap radiasi pada λ 283,3 nm dengan nyala (*flame*) berkisar 2050 -2300 °C, hal ini terjadi pada larutan destruksi D1, D2 dan D3, tetapi untuk menguraikan PbSO_4 yang terdapat pada larutan destruksi D4 dan D5 diperlukan energi (nyala) yang lebih besar dibandingkan energi untuk menguraikan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, sebab timbal yang terjadi dalam disosiasi dalam nyala yaitu timbaloksida (PbO) bukan berupa atom Pb, dan juga energi pembentukan PbSO_4 adalah -219,87 kkal/mol yaitu lebih besar dibandingkan energi pembentukan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ adalah -108,0 kkal/mol, sehingga hasil recovery untuk D4 dan D5 lebih rendah. Oleh karena itu pada preparasi sampel jika menggunakan larutan destruksi asam sulfat, yang dapat membentuk endapan sulfat, diatasi dengan penambahan senyawa pengompleks EDTA. Di sini EDTA berfungsi sebagai *protective agent* yaitu akan bereaksi dengan analit sehingga analit tidak bereaksi dengan pengganggu sulfat. Spesies EDTA yang akan membentuk kompleks dengan Pb pada pH 4 adalah spesies H_2Y^{2-} dengan reaksi kesetimbangan Pb dengan EDTA (Reaksi 2.17).

Untuk memecah ikatan kompleks [Pb-EDTA] ini diperlukan juga energi yang lebih besar dibandingkan untuk memecah $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ karena itu serapan akan semakin turun. Mengatasi hal tersebut digunakan pH yang sesuai pada pembentukan kompleks logam-EDTA, karena ion hidrogen yang semakin banyak akan menurunkan stabilitas kompleks logam-EDTA (Vogel, 1985). Pada penelitian ini penambahan EDTA dan pH yang digunakan mengaju pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (Lestari, 1993). Yaitu dengan penambahan EDTA sebagai pengkompleks logam dengan perbandingan mol 1:1 tanpa tergantung valensinya (Lampiran 1), dengan pH 4,6 yang menggunakan buffer asetat, pada perlakuan preparasi pendahuluan sampel-sampel yang terdapat unsur sulfat. Penambahan EDTA sebanding dengan mol ekuivalen Pb sehingga serapan Pb bisa konstan, semua Pb terkomplekskan dan kelebihan EDTA tidak berpengaruh terhadap serapan timbal (Pb).

4.2 Pengaruh beberapa larutan destruksi pada sampel *spike* dalam darah.

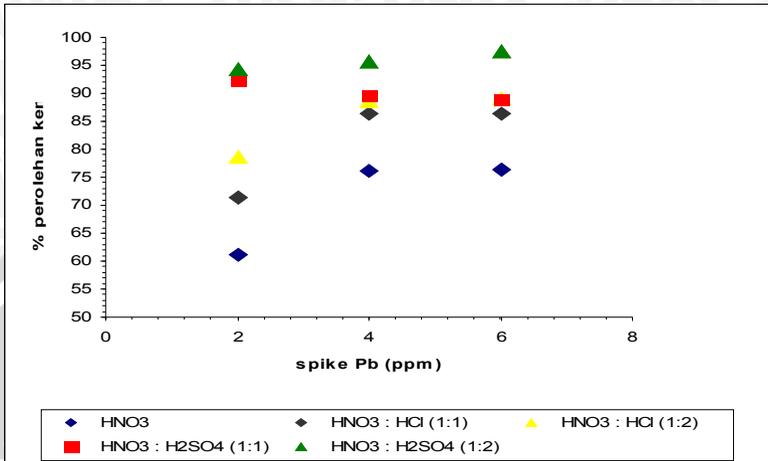


Gambar 4.3 Pengaruh perbandingan larutan asam terhadap hasil destruksi dalam darah.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran dari sampel *spike* darah

Pb <i>spike</i>	2 ppm	4 ppm	6 ppm
Larutan Destruksi			
HNO _{3p}	1,2207 ± 0,09	3.0484 ± 0,05	4,576 ± 0,07
HNO _{3p} : HCl _p (1:1)	1,4278 ± 0,01	3.4541 ± 0,02	5,183 ± 0,03
HNO _{3p} : HCl _p (1:2)	1,5713 ± 0,15	3.5432 ± 0,01	5,342 ± 0,08
HNO _{3p} : H ₂ SO _{4p} (1:1)	1,8437 ± 0,06	3.6352 ± 0,08	5,327 ± 0,09
HNO_{3p} : H₂SO_{4p} (1:2)	1,8803 ± 0,01	3.8269 ± 0,06	5,852 ± 0,03

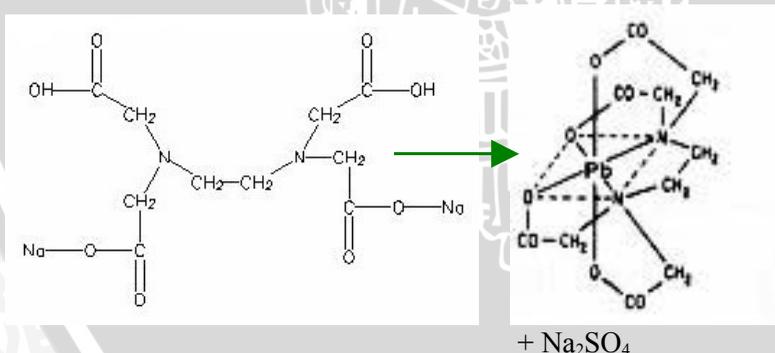
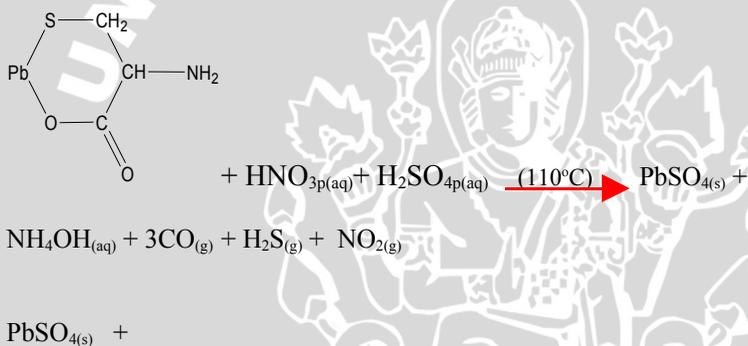
Untuk hasil rata-rata perolehan kembali (% recovery) Pb sampel *spike* darah disajikan pada Gambar 4.4 sebagai berikut :



Gambar 4.4 Hasil Perolehan kembali (% recovery) sampel *spike* darah Pb dengan perbandingan larutan destruksi asam.

Dari Gambar 4.3 ; 4.4 dan Tabel 4.2 (Tabel L. 3.2) dapat dinyatakan untuk sampel *spike* darah larutan destruktur yang terbaik (optimum) adalah kombinasi campuran larutan HNO_{3p}: H₂SO_{4p} (1:2)(D5). Hasil ini didukung oleh uji statistik menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan uji F (Anova) yang menghasilkan perbedaan yang nyata pada taraf 5% pada $df = 4$ dan $\alpha = 0,05$ (3,84) dengan $F_{hitung} = 20,16$ (Tabel. L.5.6.1), berdasarkan harga koefisien keragaman (KK) koefisien yang juga didapatkan kecil, ini berarti derajat presisi dan akurasi menyatakan validasi yang tinggi maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) sehingga diperoleh nilai yang menyatakan perbedaan dari perlakuan destruksi sampel sehingga dapat disimpulkan larutan destruksi yang terbaik (optimum) untuk sampel Pb dalam darah. Dalam hal ini terdapat juga perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan destruksi terhadap setiap kelompok sampel dengan nilai $F_{hitung\ kelompok} (1007)$ adalah lebih besar dari F_{tabel} pada $df = 2$ dan $\alpha = 0,05$ (4,459). Maka dapat dinyatakan bahwa kombinasi dari asam nitrat yang bersifat pengoksidasi yang kuat (dalam asam yang pekat) dan asam sulfat yang bukan oksidator yang sangat kuat tapi merupakan dehidrator yang sangat kuat dengan menggunakan pengompleks EDTA untuk menghindari pengendapan PbSO₄, dimana spesies EDTA yang akan membentuk kompleks

tersebut adalah spesies H_2Y^{2-} dengan penambahan buffer asetat sampai pH 4,6. Hal ini dimaksudkan untuk menurunkan stabilitas kompleks logam-EDTA sebab ion hidrogen yang semakin banyak memudahkan Pb-EDTA tersebut berdisosiasi sehingga pada pengatoman dengan kondisi nyala (*flame*) berkisar 2050 -2300 °C pada λ 283,3 nm Pb-EDTA dapat terdisosiasi maksimum menjadi atom netral timbal (Pb). Maka untuk destruksi timbal (Pb) yang terikat dalam protein plasma darah dimana terdapat enzim dengan sisi aktif sistein yang mampu mengikat timbal (Pb) dapat disimpulkan bahwa larutan destruksi $HNO_{3p}:H_2SO_{4p}$ (1:2) (D5) adalah larutan destruksi yang paling optimum, sehingga mekanisme reaksi yang terjadi:



4.3 Penentuan kurva kalibrasi timbal (Pb) yang optimum secara kurva baku dan kurva adisi standar.

Tujuan utama dalam penelitian pengujian sampel adalah untuk mendapatkan hasil pengukuran yang absah (valid), untuk mendapatkan hal tersebut maka larutan kurva kalibrasi memegang peran yang sangat penting. Karena kurva kalibrasi bertujuan untuk menentukan hubungan antara nilai-nilai yang ditunjukkan oleh alat ukur atau sistem pengukuran dengan nilai yang telah diketahui. Sehingga dilakukan perbandingan dua metoda kurva baku dan kurva adisi standar dan untuk mendapatkan hasil yang bermakna pengukuran tersebut di uji dengan statistik uji t. Hasil rata-rata pengamatan untuk kedua kurva kalibrasi timbal (Pb) tersebut tercantum dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Perbandingan hasil rata-rata pengukuran 2 ppm dan 4 ppm Pb dengan metode kurva baku dan adisi standar berganda dengan pengulangan tiga kali.

Data Kurva	Baku		Adisi	
	2 ppm	4 ppm	2 ppm	4 ppm
Rata-rata: (\bar{x}) ppm	1,9017	3,8523	1,9782	3,9582
SD	0,0054	0,0502	0,0125	0,0174
% kesalahan	0,19	0,97	0,4516	0,33
% CV	0,28	1,30	0,64	0,44
% Presisi	99,71	98,69	99,37	99,56
% Akurasi	99,80	99,03	99,55	99,67
% Recovery	95,09	96,31	98,91	98,95
Uji t pada taraf 90% (α 0,10, $t_{tabel;2} = 2,92$)				
Hasil perhitungan Uji t _{hitung} :				
$t_{hitung} = 9,744$ untuk sampel <i>spike</i> 2 ppm				
$t_{hitung} = 3,297$ untuk sampel <i>spike</i> 4 ppm				

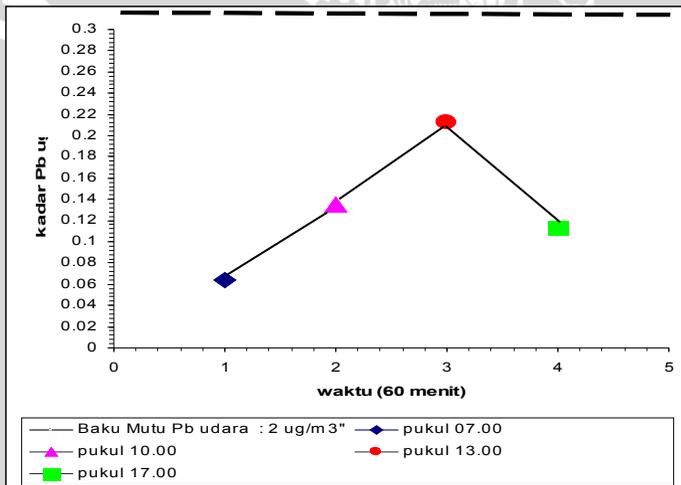
Hasil data statistik uji t untuk sampel 2 ppm dan 4 ppm yang disajikan pada Tabel 4.3 dimana $t_{tabel} = 2,92$ ($dB_2; \alpha_{0,10}$) dengan t_{hitung} lebih besar $t_h > t_t$ ($t_{h\ 2\ ppm} = 9,744$ dan $t_{h\ 4\ ppm} = 3,297$) dapat dikatakan bahwa kurva adisi standar lebih baik dan teliti daripada kurva baku dimana perhitungan terdapat pada Tabel Lampiran 5.4.

Hal ini sangat diperlukan karena jika akan menggunakan larutan-larutan standar maka kurva kalibrasi susunannya harus dibuat sesama mungkin dengan susunan larutan sampel untuk menghindari unsur-unsur yang mengganggu, akan tetapi melakukan hal tersebut tidak selalu dapat dilakukan karena susunan sampel yang dianalisa harus

diketahui terlebih dahulu dan hal ini tidak mudah dilakukan. Apalagi jika pada sampel yang akan dianalisis mempunyai komposisi unsur yang kompleks dan konsentrasi unsur yang sangat rendah. Untuk hal tersebut diatas kurva adisi standar yang dapat memenuhi kriteria tersebut dengan didukung dari hasil statistik dan hasil perolehan kembali (% *recovery*).

4.4 Pengaruh kadar timbal (Pb) di udara terhadap waktu pengambilan.

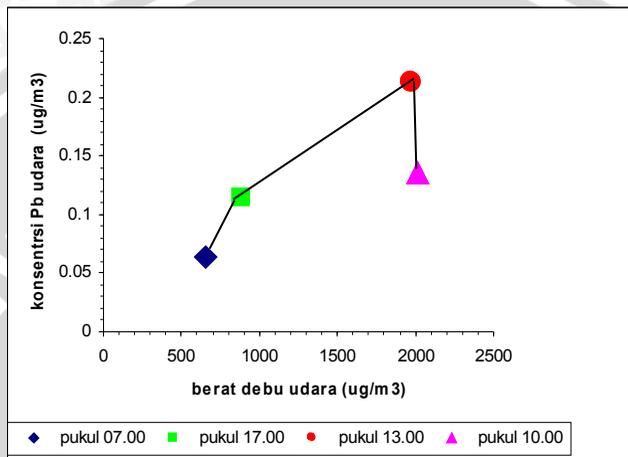
Hasil pengukuran timbal (Pb) udara dalam empat kali pengambilan disajikan pada Gambar 4.5 dan hasil konsentrasi timbal (Pb) di udara berkorelasi dengan kadar debu di udara disajikan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.5 Hasil pengukuran rata-rata konsentrasi timbal (Pb) di udara bebas.

Konsentrasi Pb di udara bebas akan semakin meningkat dengan kenaikan konsentrasi debu yang terlihat pada Gambar 4.5 dan Gambar 4.6 dimana pada pukul 13.00 WIT konsentrasi Pb yang terukur paling tinggi hal ini dapat disebabkan karena pada jam tersebut kesibukan lalu lintas sangat padat karena berbagai kegiatan yang terbanyak terjadi pada waktu tersebut. Untuk pengambilan ke

empat pada pukul 17.00 WIT konsentrasi Pb kembali turun karena Pb di udara dapat dipengaruhi oleh volume atau kepadatan lalu lintas, percepatan mesin dan arah angin (Tabel Lampiran 3.6).



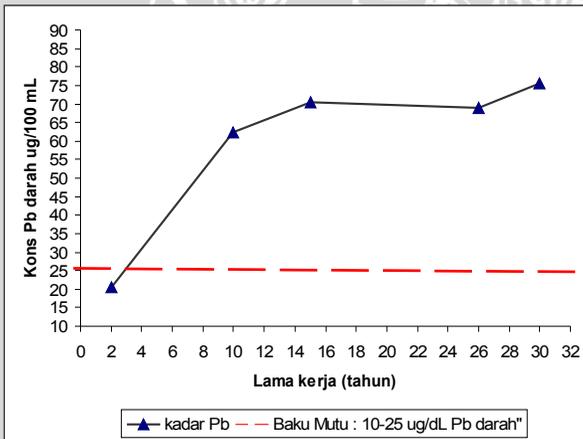
Gambar 4.6 Hubungan berat debu (TSP) dan timbal (Pb) di udara bebas.

Emisi kendaraan bermotor yang menyatu didalam udara bebas, yang menjadi kontributor utama konsentrasi timbal di udara. Ini karena adanya bahan tambahan bertimbal pada *premium* dan *fremix* yang berfungsi sebagai cairan anti letupan (anti *knocking agent*) yang mengandung *scavenger* kimiawi, yang dimaksudkan untuk dapat mengurangi letupan selama proses pemampatan dan pembakaran di dalam mesin. Bahan tersebut yang lazim dipakai adalah tetraetillead (TEL) $[Pb(C_2H_5)_4]$, tetrametillead (TML) $[Pb(CH_3)_4]$ atau kombinasinya. Umumnya etilen dibromida ($C_2H_4Br_2$) dan diklorida ($C_2H_4Cl_2$) ditambahkan agar dapat bereaksi dengan sisa senyawa Pb yang tertinggal di dalam mesin sebagai akibat dari pembakaran bahan anti letupan tersebut. Maka dari berbagai senyawa buangan bertimbal yang mengandung gugus halogen tersebut, yang paling banyak adalah emisi senyawa-senyawa $PbBrCl$ dan $PbBrCl_2PbO$ (Batara, 2005). Baku mutu udara bebas (*ambien*) yang diatur dalam PP 41 tahun 1999 adalah : $2 \mu g/m^3$ untuk pengukuran 24 jam dan $1 \mu g/m^3$ untuk pengukuran 1 tahun dan debu /TSP $230 \mu g/m^3$.

Batara (2005) juga menyatakan faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi timbal di udara yaitu : a). Waktu, temperatur, kecepatan dari emisi, ukuran, bentuk, dan kepadatan timbal ; b). Parameter meteorologi seperti kecepatan angin, derajat turbulensi dan kelembaban, dan c). Jarak pengambilan contoh dari sumber pencemar, topografi setempat seperti lembah, bukit yang akan mempengaruhi penyebarannya. Hal ini dapat dilihat dari data hasil perhitungan konsentrasi Pb pada Tabel Lampiran 3.6.5., untuk lokasi yang tidak mempunyai kepadatan lalu lintas.

4.5 Pengaruh lama bekerja dengan kadar timbal (Pb) dalam darah pekerja Terminal.

Masuknya timbal (Pb) dari debu ke tubuh manusia hampir seluruhnya melalui saluran pernafasan. Ketentuan WHO, kadar Pb dalam darah manusia yang tidak terpapar oleh Pb adalah sekitar 10 – 25 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ (Sudarmaji, dkk. , 2006). Hasil pengukuran kadar timbal (Pb) dalam darah disajikan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hubungan lama kerja dan Pb dalam darah pekerja

Berdasarkan data penelitian pada pekerja terminal diketahui bahwa tingginya kadar timbal dalam darah akan semakin meningkat seiring dengan lama bekerja. Pada dua tahun bekerja mempunyai konsentrasi 20,66 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$, namun pada tahun yang ke limabelas

bekerja Pb cenderung stabil dengan konsentrasi antara 54,90 $\mu\text{g}/100$ mL sampai 82,78 $\mu\text{g}/100$ mL (Tabel Lampiran 3.).

Hal ini diduga karena sekelompok protein kecil dalam sitosol (bagian cair dari sitoplasma) yaitu *metallothionein* (*metal-binding protein*) yang berperan dalam proses pengikat logam di dalam jaringan, yang berada dalam keadaan mengakumulasi ion timbal (Pb) yang tidak mengalami metabolisme (*non biodegradable*) sehingga logam-logam essensial tubuh seperti Zn, Fe, juga Ca yang bermuatan sama dengan timbal (Pb) akan tergantikan sehingga menjadi tidak aktif lagi dan dapat mengganggu metabolisme tubuh. Maka dari hal tersebut dapat dilakukan pencegahan agar tidak terpapar timbal (Pb) yaitu bisa menggunakan masker untuk menghindari terhirup secara langsung melalui pernafasan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Komposisi larutan destruksi asam yang optimum untuk sampel *spike* pada konsentrasi Pb 2,4,6 ppm adalah HNO_{3p} ; HNO_{3p} : HCl_p (1:1) dan HNO_{3p} : HCl_p (1:2) dengan *recovery* rata-rata sebesar 98,72%.
2. Komposisi larutan destruksi asam yang optimum untuk sampel *spike* dalam darah pada konsentrasi Pb 2,4,6 ppm menggunakan pengompleks EDTA dan buffer asetat pada pH 4,6 adalah campuran HNO_{3p} : H_2SO_{4p} (1:2) dengan *recovery* rata-rata masing-masing 94,40% (2 ppm), 95,67% (4 ppm) dan 97,53% (6 ppm).
3. Berdasarkan hasil analisa data secara ANOVA menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dan BNT pada taraf 5% menyatakan adanya pengaruh larutan destruksi terhadap kelompok sampel (*spike* dan *spike* darah) yang digunakan.
4. Hasil uji-t terhadap ketepatan dan ketelitian hasil pengukuran konsentrasi Pb secara adisi standar berbeda dengan hasil pengukuran secara kurva baku. Metoda adisi standar memberikan ketepatan dan ketelitian yang lebih baik dibandingkan metoda kurva baku.
5. Konsentrasi (Pb) di udara dan jumlah debu di udara dipengaruhi oleh waktu pengambilan sampel pukul 13.00 WIT yang merupakan waktu maksimum konsentrasi Pb yang ekuivalen dengan jumlah Pb di udara.
6. Konsentrasi Pb dalam darah pekerja terminal meningkat dengan meningkatnya lama kerja.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi destruksi dengan perbandingan jenis-jenis asam yang berbeda, misalnya asam perklorat. Pada konsentrasi timbal (Pb) di udara bebas dan pekerja pada terminal perlu dilakukan dengan sampel yang bervariasi seperti umur, jenis kelamin, berat badan serta lokasi pengambilan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, H, 1992, **Kimia Unsur dan Radiokimia**, Citra Aditya Bakti, Bandung, hal. 179 -181.

Anonymous, 1980, **Guidelines on Studies in Environmental Epidemiology**, WHO, Geneva.

—————, 1986, **Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes**, USEPA, Cincinnati, Ohio.

Anonim, 1998, **SNI- 19-4840**, Badan Standardisasi Nasional, ICS. 13.040.20, Jakarta.

—————, 2005, **SNI- 19-7119-4**, Badan Standardisasi Nasional. ICS.13.040.20, Jakarta.

Ardyanto, D, 2005, **Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) Dalam Darah Masyarakat Yang Terpajan Timbal (Plumbum)**, http://www.Journalunair.ac.id/login/Journal/filer/KESLING_1_1_07.pdf, tanggal akses : 2 Juli 2007.

Arsyad, N. M, 2001, **Kamus Kimia**, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal. 341 - 342.

Atikah, 1983, **Pengaruh Waktu Penyimpanan Terhadap Kadar Logam Berat Pada Buah-Buahan Dalam Kaleng**, Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

Basset, J., R. C. Denney, G. H. Jeffery, dan Mendham, 2002, Vogel: **Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik**, Penerbit Buku Kedokteran, United Kingdom, hal. 207 -209.

Batara, E.M.S, 2005, **Pencemaran Udara Respon Tanaman Dan Pengaruh Pada Manusia**, http://www.Library.usu.ac.id/download/fp/hutan_odi_batara_13.pdf, tanggal akses : 8 November 2007.

Brady, J.E , 1999, **Kimia Universitas Asas dan Struktur**, Edisi ke lima, Penerjemah Maun,S.Kamianti,A.Sally,S.T, Binarupa Aksara, Jakarta, hal. 178 - 191.

Cotton, A. F. dan G .Wilkinson, 1989, **Kimia Anorganik Dasar**, Penerjemah Suharto, S. U.I, Jakarta, hal.128, 187 - 205.

Day, R. A., dan Underwood, A. L., 2002, **Analisis Kimia Kuantitatif**, Erlangga, Jakarta, hal. 437 - 444.

Dajan, Anto, 1986, **Pengantar Metode Statistik**, PT Pustaka LP3ES, Jakarta, hal. 170-187.

Fong, S. S, 2006, **Evaluation of the Acid Digestion Method with Different Solvent Combination for the Determiation of Iron, Zinc and Lead in Canned Sardines**, http://ikm.org.my/MSCB_010_015_SimSongFong.pdf.
tanggal akses : 27 Mei 2007.

Ganiswara,S., Setiabudi, R., Sjamsudin, U., Bustam, Z.S., dan G.Sulistia, 2005, **Farmakologi Dan Terapi**, Edisi keempat. 78-1-786.Farmakologi FKUI.Percetakan Gaya Baru, Jakarta, hal. 781 - 786.

Goldstein, B.D and H.M Kipen,1994, **Haematologic Disorder.In Levy and Wegman (eds): Occupational Health Recognizing and Preveting Work - Realted Diseases.3 rd ed**, United Stated of America: Little Brown and Company, hal. 11 - 13.

Hendayana, S., Kadarohman, A., Sumarna, A., dan Supriatna, A., 1994, **Kimia Analitik Instrumen**, IKIP Semarang Press, Semarang, hal. 15 - 25.

Juliardi, H, 1995. **Pengaruh Ekstrak Ginseng Jawa terhadap Kadar Hemoglobin Darah Tikus Putih yang Tercemar Timbal**, Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam- Biologi, Universiitas Airlangga, Surabaya

Khopkar, 1984, **Konsep Dasar Kimia Analitik** ,Universitas Indonesia Press, Jakarta, hal. 275 - 285.

Lestari, S, 1993, **Penggunaan EDTA Dalam Mengatasi Gangguan Sulfat dan Fosfat Pada Penentuan Timbal (Pb) secara Spektrofotometri Serapan Atom**, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.-Kimia, Universitas Brawijaya, Malang.

Manahan,S.E, 1977, **Environmental Chemistry**, 2nd ed. Willard Grant Press Boston,Massachusetts, hal. 416.

Marganof, 2003, **Potensi Limbah Udang Sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan**, http://tumoutou.net/702_07134/marganof.pdf, tanggal akses : 8 Desember 2007

Miller, J. G. dan W.D. Connell, 2006, **Kimia Dan Ekotoksikologi Pencemaran**, Penerjemah Yanti Koestoer. U.I, Jakarta, hal. 178 - 181.

Miller, J.C. dan J.N. Miller, 1991, **Statistika Untuk Kimia Analitik**, Penerjemah Suroso. ITB, Bandung, hal. 35 - 55.

Murray, K.R. , K. D. Granner. , A.P. Mnyes. dan W.V. Rodwell, 2003, **Biokimia Harper**, Edisi kedua puluh lima. Penerjemah Hartono. A. EGC, Jakarta, hal. 205 - 211.

Narsito, 1996, **Prinsip Dasar Dan Aplikasi SSA**, Gajah Mada U.Press, Yogyakarta, hal. 46 - 55.

Nendrosuwito, D. , E. Meirad., Hidayah. dan D. Dahlan, 2003, **Pedoman Pemeriksaan Toksikologi Logam Berat dengan Metoda Spektrofotometri Serapan Atom**, Dep-Kes RI, Jakarta, hal. 8 - 12 .

Nur, M. A, 1989, **Spektroskopi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi**, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Ochiai, E, 1977, **Bioinorganic Chemistry An Introduction**, Allyn and Bacon, Boston.

O'Neill, P., 1994, **Environmental Chemistry**, Second edition, Chapman and Hall, London, pp. 203 - 208.

Palar, H., 1994, **Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat**, Rineka Cipta, Jakarta, hal. 48 - 55.

Petrucci, R. H., 1993, **Kimia Dasar Prinsip Dan Terapan Modern**. Edisi keempat, Penerjemah Suminar, A. Erlangga, Jakarta, hal 269 - 27.

Price, W. J., 1978, **Analytical Atomic Absorption Spectrometry**, Heyden dan Sons Ltd, London.

Sastrohamidjojo, H., 2001, **Spektroskopi**, Liberty, Yogyakarta, hal. 2 - 15.

Skoog, D.A., D.M. West dan F.J. Holler, 1988, **Fundamentals of Analytical Chemistry**, 5th ed., Philadelphia Sounders College Publishing, Philadelphia, pp. 23-27, 353.

Supramono dan Sugiarto, 1990, **Statistika**, Penerbit Andi Offset, Yogyakarta, hal 203-223.

Sudarmaji, J., Mukono. dan I.P. Corie, 2006, **Toksikologi Logam Berat B3 Dan Dampaknya Terhadap Kesehatan**, http://Journal.unair.ac.id/login/Journal/filer/KESLING_2_2_03.pdf, tanggal akses : 2 Juli 2007

Sudiana, L.P., 1986, **Metode Dekomposisi Batuan Sistem Campuran HF -H₂SO₄ - HNO₃ dan system campuran HF - Akuaregia dalam Teflon**, Yogyakarta.

Sugiharto, 2004, **Pengaruh Infus Rimpang Temulawak (*curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Kadar Hemoglobin Dan Jumlah Eritrosit Tikus Putih Yang Diberi Larutan Timbal Nitrat [(PbNO₃)₂]**, <http://Journal.discoverindonesia.com/index.php/hayati/article/view/25/26>, tanggal akses : 8 Januari 2008.

Suoth, E.A, 2000, **Pengendalian Mutu Analisis Di Laboratorium, PUSARPEDAL- BAPEDAL Serpong**, Jakarta, hal. 1 - 15.

Van Loon, C.J, 1980, **Analytical Atomic Absorption Spectroscopy**, Academic Press. INC, London, pp. 48 - 53.

Vogel, 1985, **Buku teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro**, bagian 1&2 edisi kelima, diterjemahkan oleh L. Setiono dan A.H. Pudjaatmaka, PT. Kalman Media Pusaka, Jakarta, hal. 207:210.

Yitnosumarto, S.,1991, **Percobaan,Perancangan, Analisis, dan Interpretasinya**, PT.Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal.10-32.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Preparasi Larutan

a. Larutan destruksi

larutan destruksi $\text{HNO}_{3p} : \text{H}_2\text{SO}_{4p} (1:2)$

b. Larutan standar timbal (Pb) 1000 mg/L

BA Pb (II) = 207,2 g/mol dan BM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 = 331,2$ g/mol

$$\text{mg Pb} = \frac{BAPb}{BMPb(\text{NO}_3)_2} \times \text{Berat Pb}(\text{NO}_3)_2$$

$$\text{mg Pb} = \frac{207,2}{331,2} \times 1000 \text{ mg}$$

Berat $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ yang ditimbang 1597,44 mg = 1,597 gram dan dilarutkan (sebelumnya dikeringkan pada 80°C selama 2 jam) dengan akuades, ditambahkan 10 mL asam nitrat pekat (HNO_3 1:1) dan diencerkan sampai 1 liter dengan akuademineralisata.

c. Larutan Asam nitrat 2 : 98

Dipipet larutan HNO_3 pekat 65% sebanyak 20 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 1 L, yang sudah berisi akuadem 200 mL kemudian diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas.

d. Larutan Asam klorida 1 : 2

Dimasukkan larutan HCl pekat 37% sebanyak 500 mL dan dimasukkan dalam labu ukur 1 L, yang sudah berisi akuadem 400 mL kemudian diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas.

e. Larutan EDTA 100 mg/L

Ditimbang dengan teliti 1,0659 gram Na_2EDTA (BM 338,24 g/mol) dilarutkan dengan akuademineralisata dalam beakerglass, kemudian dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 1000 mL, selanjutnya diencerkan dengan akuadem sampai tanda batas.

f. Larutan CH_3COONa 0,2 M (A)

Ditimbang 2,721 gram $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (BM 136,05) dilarutkan dengan akuadem dalam beakerglass, kemudian

dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL, selanjutnya diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

g. Larutan CH_3COOH 0,2 M (B)

Dipipet 1,2 mL CH_3COOH glasial 100% diencerkan dengan akuades di dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

f. Perhitungan mol ekuivalen Pb dengan EDTA

EDTA bereaksi dengan Pb dengan perbandingan 1:1 tanpa tergantung valensinya maka mol Pb setara dengan mol EDTA, yaitu *spike* dengan konsentrasi 2 ppm Pb = 0,0097 mmol Pb dari

perhitungan : $\frac{2\text{mg/L}}{\text{BAPb}(207,2\text{g/mol})}$ maka untuk 4 ppm = 0,0193

mmol Pb dan 6 ppm = 0,0290 mmol Pb. Karena fraksi mol H_2Y^{2-} dari EDTA pH 4,6 adalah $\alpha_2 = 0,9622$ (Day dan Underwood, 1981) maka mol EDTA untuk mencapai ekuivalen dengan : 0,0097, 0,0193, 0,0290 mmol Pb adalah

Spike 2 ppm = $0,0097 \times \frac{100}{96,22} = 0,01003$ mmol EDTA untuk 4

ppm = 0,02006 mmol EDTA dan 6 ppm = 0,0301 mmol EDTA.

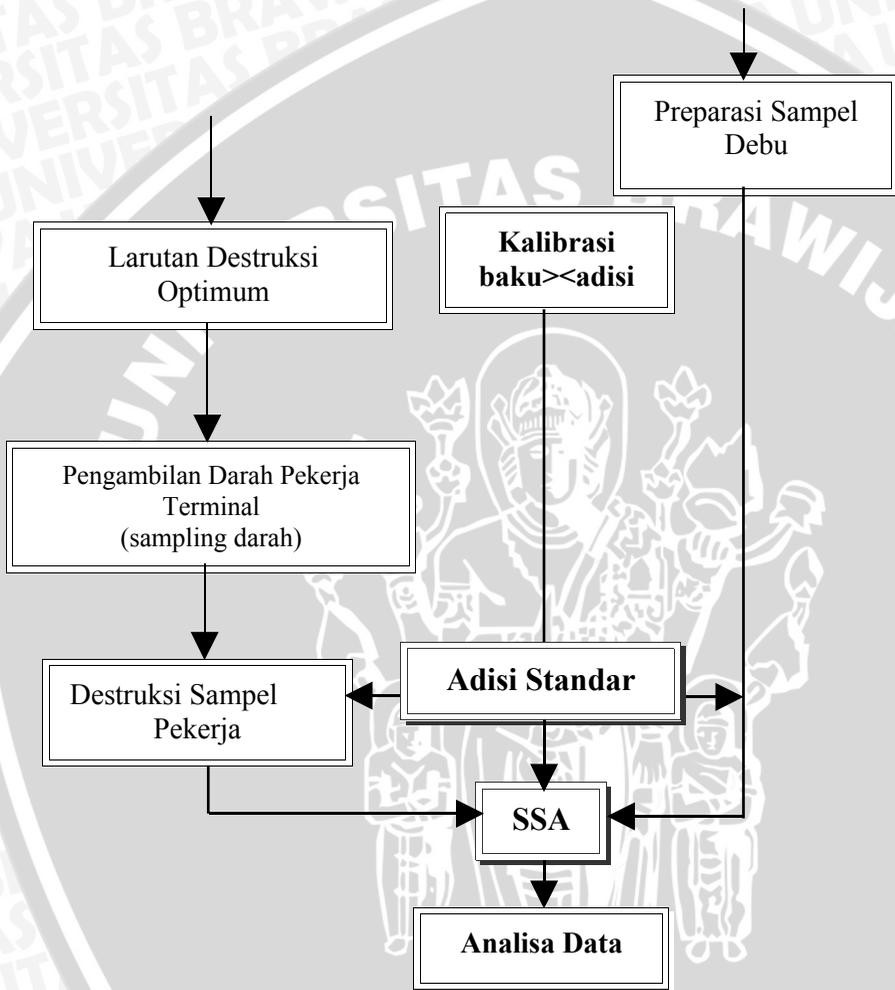
Untuk *spike* 2 ppm ditambahkan 0,01003 mmol EDTA (BM EDTA : 292,24 g/mol) dari perhitungan mmol EDTA x BM EDTA g/mol = 0,01003 mmol x 292,24 g/mol = 2,939 ppm EDTA = 3 ppm EDTA, maka untuk 4 ppm Pb ditambahkan 6 ppm EDTA dan *spike* 6 ppm Pb setara dengan 9 ppm EDTA yang ditambahkan.

Lampiran 2

Diagram Alir Penelitian

Pemilihan larutan destruksi dengan *spike* dan *spike* darah 2,0;4,0;6,0 ppm (Pb) dalam 5 macam larutan destruksi asam

Pengambilan Debu Udara Bebas Terminal (sampling Debu /TSP)



L.2.2 Analisis Sampel

L.2.2.1 Pembuatan Larutan Kurva baku Pb pada rentang konsentrasi : 0.00 – 10.0 ppm Timbal (Pb)

- dibuat larutan baku Pb dengan konsentrasi : 10, 8 dan 6 ppm dengan dipipet masing-masing: 5, 4, dan 3 mL dari 100 ppm larutan baku Pb dan
- dibuat larutan baku Pb dengan konsentrasi 4,2 dan 1 ppm dengan dipipet masing-masing: 20 ; 10 dan 5 mL dari 10 ppm larutan baku Pb.
- diencerkan dengan akudem 40 mL
- dimasukkan dalam labu ukur 50 mL
- diencerkan hingga batas tanda
- diukur konsentrasi dengan menggunakan SSA λ 283,3 nm dengan blanko akuadem

Data

L.2.2.2 Penentuan Sampel *Spike*

Sampel *spike* ditambah larutan baku (Pb)
2,0;4,0;6,0 ppm

- ditambahkan 3 mL masing- masing larutan destruksi, ditambahkan 10 mL akuadem
- dimasukkan dalam labu ukur 50 mL
- diencerkan hingga tanda batas
- diukur bersama kurva baku dengan SSA λ 283,3 nm dan menggunakan
- blanko dari larutan destruksi diencerkan dengan akudem pada labu ukur 50 mL

Data

L.2.2.3 Penentuan Sampel *Spike* Darah

Sampel darah 3,0 mL ditambah larutan baku (Pb) : 2,0;4,0;6,0

- ditambahkan 3 mL masing-masing larutan destruksi, dibiarkan pada suhu kamar (25°C) 24 jam
- ditambahkan larutan EDTA untuk D₄ dan D₅ masing-masing 1,5 ; 3 dan 4,5 mL dari konsentrasi 100 ppm EDTA
- ditambahkan 20 mL akuadem
- dipanaskan pada waterbath minyak nabati

Destruksi basah

- dibiarkan 3 jam, hingga diperoleh larutan jernih, sampai volume 2 mL, didinginkan
- ditambahkan 10 mL akudem, disaring
- untuk destruktur D₄ dan D₅ ditambahkan larutan buffer asetat hingga pH 4,6
- dimasukkan dalam labu ukur 50 mL
- ditambahkan hingga tanda batas
- blanko larutan destruksi diperlakukan sama seperti pada perlakuan sampel
- diukur bersama kurva baku dengan SSA λ 283,3 nm

Data

L. 2.2.4 Penentuan Larutan Kurva Adisi standar rentang : 0.00 – 6.00 ppm Timbal (Pb)

Larutan adisi standar : 0 ; 2 ; 4 dan 6 ppm (Pb)

- dibuat larutan baku 0 ,2, 4 dan 6 ppm dari 10 ppm larutan baku Pb
- dipipet masing-masing 0, 10, 20, 30,0 mL dan
- ditambahkan masing-masing 15 mL larutan baku 2 ppm sebagai sampel dibuat juga untuk sampel 4 ppm Pb, dimasukan dalam labu ukur 50 mL
- diencerkan dengan akudem hingga batas tanda
- diukur dengan menggunakan SSA λ 283,3 nm

Data

L.2.2.5 Penentuan Sampel Timbal (Pb) Debu / TSP

Sampel filter debu

- dipotong kecil-kecil
- dimasukkan di dalam beakerglass

Destruksi basah

- ditambah 60 mL HCl (1+2)
- ditambah 5 mL H₂O₂ 30 %
- ditutup dengan kaca arloji

Pemanasan

- dipanaskan diatas plat listrik 1 jam
- diturunkan dari pemanas
- ditambah 5 mL H₂O₂ 30%
- dipanaskan lagi selama 30 menit
- didinginkan dan di saring
- dipanaskan filtrat hingga kering,
- didinginkan dan ditambahkan 30 mL HNO₃ (2: 8)
- dimasukkan dalam labu ukur 50 mL
- ditambahkan hingga tanda batas
- blanko dibuat dari kertas filter yang diperlakukan preparasinya sama seperti sampel TSP
- dimasukkan masing-masing 10 mL pada kurva baku 0, 2,4, dan 6 ppm dan dimasukkan dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas
- diukur larutan adisi standar dengan menggunakan SSA λ 283,3 nm

Data

L.2.2.6 Penentuan Sampel Pekerja Terminal

Sampel 3 mL darah pekerja

- ditambahkan 3 mL larutan destruksi $\text{HNO}_{3p}:\text{H}_2\text{SO}_{4p}(1:2)$ dibiarkan pada suhu kamar (25°C) selama 24 jam
- ditambahkan 20 mL akuadem
- dipanaskan pada waterbath minyak nabati (110°C)

Destruksi basah

- dibiarkan 3 jam, hingga diperoleh larutan jernih, sampai volume 2 mL, didinginkan
- ditambahkan 15 mL akudem, disaring
- diencerkan dan mengatur pH larutan menjadi pH 4,6 dengan buffer asetat (5 - 6 mL) dimasukkan ke labu ukur 25 mL hingga batas tanda
- dimasukkan masing-masing 5 mL sampel pada larutan baku dengan rentang konsentrasi : 0, 2, 4, dan 6 ppm dengan volume akhir 25 mL
- blanko darah diperlakukan sama seperti sampel
- diukur kurva adisi sampel menggunakan SSA pada λ 283,3 nm

Data

Lampiran 3

Hasil Penentuan Analisis Penelitian

Tabel L.3.1 Data destruksi sampel *spike*

Tabel L.3.1.1 Penentuan *spike* 2 ppm timbal (Pb)

Destruksi	D1	D2	D3	D3	D5
Data					
Rata-rata (\bar{X}) ppm	1,9183	1,9374	1,9429	1,6788	1,5357
SD	0,0385	0,0270	0,0443	0,015	0,047
% kesalahan	1,48	1,04	1,54	0,56	2,35
% CV	2,00	1,39	2,27	0,86	3,07
% Presisi	97,99	98,60	97,72	98,55	95,34
% Akurasi	98,51	98,96	98,45	99,43	97,65
μ .95% t ; 4,30	0,0955	0,0671	0,1099	0,0372	0,1167
% recovery (R)	95,92	96,87	97,15	83,94	76,79

Tabel L.3.1.2 Penentuan *spike* darah 2 ppm timbal (Pb)

Destruksi	D1	D2	D3	D4	D5
Data					
Rata-rata (\bar{X}) ppm	1,2207	1,4278	1,5713	1,8437	1,8880
SD	0,09	0,01	0,15	0,06	0,01
% kesalahan	9,22	0,78	6,73	2,08	4,50
% CV	8,02	0,67	9,39	3,31	0,43
% Presisi	91,97	99,32	90,60	96,69	99,57
% Akurasi	93,85	99,48	92,84	97,45	98,35
μ .95% t ; 4,30	0,2430	0,0239	0,3665	0,1516	0,0201
% recovery (R)	61,04	71,39	78,57	92,19	94,40

Tabel L.3.1.3 Penentuan *spike* 4 ppm timbal (Pb)

Destruksi	D1	D2	D3	D4	D5
Data					
Rata-rata (\bar{X}) ppm	3,9557	3,9466	3,9440	3,8843	3,8671
SD	0,0159	0,0277	0,0467	0,0148	0,0253
% kesalahan	0,27	0,53	0,82	0,62	0,50
% CV	0,40	0,70	1,19	0,38	0,65
% Presisi	99,59	99,29	98,81	99,62	99,34
% Akurasi	99,73	99,47	99,18	99,38	99,50
μ .95% t ; 4,30	0,0396	0,0689	0,1160	0,0367	0,0627
% recovery (R)	98,89	98,67	98,60	97,11	96,68

Tabel L.3.1.4 Penentuan *spike* darah 4 ppm timbal (Pb)

Destruksi	D1	D2	D3	D4	D5
Data					
Rata-rata (\bar{X}) ppm	3,0484	3,4541	3,5432	3,5842	3,8269
SD	0,0486	0,0243	0,0044	0,0764	0,0618
% kesalahan	0,03	0,50	0,09	1,92	1,20
% CV	1,59	0,70	0,12	2,13	1,61
% Presisi	98,40	99,29	99,87	97,87	98,39
% Akurasi	99,97	99,50	99,80	98,08	98,79
μ .95% t ; 4,30	0,1206	0,0604	0,0108	0,1897	0,1531
% recovery (R)	76,21	86,35	88,58	89,61	95,67

Tabel L.3.1.5 Penentuan *spike* 6 ppm timbal (Pb)

Destruksi	D1	D2	D3	D4	D5
Data					
Rata-rata (\bar{X}) ppm	5,9304	5,9405	5,9297	5,6838	5,5243
SD	0,0149	0,0254	0,0587	0,007	0,040
% kesalahan	0,27	0,53	0,82	0,62	0,50
% CV	0,37	1,41	3,39	0,58	0,34
% Presisi	99,62	98,58	96,61	99,87	99,27
% Akurasi	99,73	99,47	99,18	99,99	99,48
μ .95% t ; 4,30	0,0370	0,0609	0,1457	0,0251	0,0146
% recovery (R)	98,84	98,95	98,87	94,73	92,07

Tabel L.3.3.6 Penentuan *spike* darah 6 ppm timbal (Pb)

Destruksi	D1	D2	D3	D4	D5
Data					
Rata-rata (\bar{X}) ppm	4,5756	5,1828	5,3422	5,3267	5,8518
SD	0,0685	0,0331	0,0837	0,0939	0,0318
% kesalahan	1,04	0,49	1,14	1,33	0,42
% CV	1,49	0,64	1,57	1,76	0,54
% Presisi	98,50	99,36	98,43	98,24	99,46
% Akurasi	98,96	99,51	98,85	98,66	99,58
μ .95% t ; 4,30	0,1701	0,0822	0,2077	0,2330	0,0788
% recovery (R)	76,26	86,38	89,04	88,78	97,53

Tabel L.3.4 Data penentuan *spike* 2 ppm timbal (Pb) yang menggunakan kurva baku dan adisi standar dengan konsentrasi : 0; 2; 4 dan 6 ppm.

Data	Kurva	Baku	Adisi
Rata-rata: (\bar{X}) ppm		1,9017	1,9782
SD		0,0054	0,0125
% kesalahan		0,19	0,4516
% CV		0,28	0,64
% Presisi		99,71	99,37
% Akurasi		99,80	99,55
$\mu.95\% t_{\text{tabel}} = 4,30$		0,0134	0,0311

Tabel L.3.5 Data penentuan *spike* 4 ppm timbal Pb yang menggunakan kurva baku dan adisi standar dengan konsentrasi : 0; 2; 4 dan 6 ppm.

Data	Kurva	Baku	Adisi
Rata-rata : (\bar{X}) ppm		3,8523	3,9582
SD		0,0502	0,0174
% kesalahan		0,97	0,33
% CV		1,30	0,44
% Presisi		98,69	99,56
% Akurasi		99,03	99,67
$\mu.95\% t_{\text{tabel}} = 4,30$		0,1245	0,0432

Tabel L.3.6 Data Penentuan Sampel Timbal (Pb) Di udara Dengan Empat Kali (4 X) Pengambilan

Tabel L.3.6.1 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 07.00 sampai 08.00 WIT Kode I di Terminal

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata: (\bar{X}) ppm	0,0840 gram	655,56 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,0637 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,00015	1,1945	0,0015
% kesalahan	0,20	0,13	1,74
% CV	0,18	0,18	2,32
% Presisi	99,82	99,82	97,68

% Akurasi	99,80	99,86	98,25
$\mu.95\% t_{\text{tabel}} = 4,30$	0,0004	2,9654	0,004
Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,42 - 1,48	29°C = 302 K	75	0,2
Arah angin : utara ke selatan			
Cuaca : berawan			

Tabel L.3.6.2 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 10.00 sampai 11.00 WIT Kode II di Terminal

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata : (\bar{X}) ppm	0,1779 gram	2013,27 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,1350 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,00047	5,3564	0,0019
% kesalahan	0,18	0,20	1,12
% CV	0,27	0,27	1,46
% Presisi	99,73	99,73	98,53
% Akurasi	99,81	99,80	98,88
$\mu.95\% t_{\text{tabel}} = 4,30$	0,0012	13,297	0,005
Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,42 - 1,60	33°C = 306 K	64	0,3
Arah angin : utara ke selatan			
Cuaca : cerah			

Tabel L.3.6.3 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 13.00 sampai 14.00 WIT Kode III di Terminal

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata : (\bar{X}) ppm	0,1637	1979,39 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,2127 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,0001	1,2092	0,0085
% kesalahan	0,04	0,04	2,77
% CV	0,06	0,06	3,98
% Presisi	99,93	99,94	96,02
% Akurasi	99,95	99,96	97,23

$\mu.95\%$ $t_{\text{tabel}} = 4,30$	0.0002	3.0013	0.0211
Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,42 -1,42	34°C = 307 K	62,5	0,2
Arah angin : barat ke timur			
Cuaca : cerah			

Tabel L.3.6.4 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 17.00 sampai 18.00 WIT Kode IV di Terminal

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata: (\bar{X}) ppm	0,0952	880,0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,1137 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,00012	1,0672	0,00094
% kesalahan	0,11	0,09	0,62
% CV	0,12	0,12	0,83
% Presisi	99,89	99,87	99,17
% Akurasi	99,89	99,90	99,38
$\mu.95\%$ $t ; 4,30$	0,0003	2,6494	0,0024
Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,13 -1,42	31°C = 304 K	68,5	0,2
Arah angin : barat ke timur			
Cuaca : berawan			

Tabel L.3.6.5 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 07.00 sampai 08.00 WIT Kode I di Kertak Hanyar (pembanding : 3 KM dari Terminal)

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata: (\bar{X}) ppm	0,0131 gram	92,93 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,0001	0,4099	-
% kesalahan	0,76	0,38	-
% CV	4,41	0,44	-
% Presisi	95,6	99,5	-
% Akurasi	99,2	99,6	-
$\mu.95\%$ $t_{\text{tabel}} = 4,30$	0,0003	1,017	-

Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,58 – 1,60	30 = 303	60	0,3
Arah angin : selatan ke utara			
Cuaca : berawan			

Tabel L.3.6.6 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 10.00 sampai 11.00 WIT Kode II di Kertak Hanyar (pembanding : 3 KM dari Terminal)

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata : (\bar{X}) ppm	0,0141 gram	103,6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,00015	1,1206	-
% kesalahan	1,06	1,57	-
% CV	1,08	1,08	-
% Presisi	98,9	98,9	-
% Akurasi	98,9	98,4	-
$\mu.95\%$ $t_{\text{tabel}} = 4,30$	0,0004	2,782	-
Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,52 -1,60	31 = 304	69	0,3
Arah angin : timur ke barat			
Cuaca : berawan			

Tabel L.3.6.7 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 13.00 sampai 14.00 WIT Kode III di Kertak Hanyar (pembanding : 3 KM dari Terminal)

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata : (\bar{X}) ppm	0,0170	192 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0,00012	1,3019	-
% kesalahan	0,59	0,58	-
% CV	0,68	0,68	-
% Presisi	99,3	99,3	-
% Akurasi	99,5	99,4	-
$\mu.95\%$ $t_{\text{tabel}} = 4,30$	0.0002	3.232	-
Meterologi			

Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,52 -1,52	34,0 = 307	60	1,9
Arah angin : timur ke barat			
Cuaca : cerah			

Tabel L.3.6.8 Data Penentuan Sampel Pengambilan Jam 17.00 sampai 18.00 WIT Kode IV di Kertak Hanyar (pembanding : 3 KM dari Terminal)

Data	Penimbangan Filterglass	TSP / Debu	Timbal(Pb) (Kurva Adisi)
Rata-rata: (\bar{X}) ppm	0,0129 gram	98,95 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
SD	0.0005	1,1707	-
% kesalahan	1,29	1,29	-
% CV	3,88	1,18	-
% Presisi	96,1	98,8	-
% Akurasi	98,7	98,7	-
$\mu.95\% t ; 4,30$	0,00124	2,9064	-
Meterologi			
Flowrate (L/menit)	Suhu Celsius dan Kelvin	Kelembaban (%)	Kecepatan angin (m/detik)
1,47 -1,49	30 = 303	73	0,4
Arah angin : utara ke selatan			
Cuaca : berawan			

Tabel L.3.7 Data Penentuan Sampel Timbal (Pb) Dalam Darah Pekerja Terminal Diukur Menggunakan Kurva Adisi Standar

No	Lama Kerja & Umur	Perilaku	Pers.Reggs	Pb $\mu\text{g}/100\text{ml}$
1	10 thn 42 thn	tidak merokok	$y = 0,0595x + 0,0009$	63,03
2	15 thn 50 thn	merokok	$y = 0,0609x + 0,0011$	75,26
3	15 thn 45 thn	merokok	$y = 0,0604x + 0,0012$	82,78

No	Lama Kerja & Umur	Perilaku	Pers.Regs	Pb $\mu\text{g}/100\text{ml}$
4	26 thn 49 thn	merokok	$y = 0,0605x + 0,0010$	68,87
5	15 thn 38 thn	merokok	$y = 0,0607x + 0,0008$	54,90
6	15 thn 38 thn	merokok	$y = 0,0605x + 0,0010$	68,80
7	10 thn 37 thn	merokok	$y = 0,0605x + 0,0009$	61,98
8	10 thn 35 thn	merokok	$y = 0,0607x + 0,0009$	61,77
9	2 thn 34 thn	merokok	$y = 0,0605x + 0,0003$	20,66
10	30 thn 60 thn	tidak merokok	$y = 0,0607x + 0,0011$	75,51

L.3.7.1 Data Perhitungan konsentrasi sampel darah pekerja

Untuk sampel nomor 10 dengan diketahui persamaan regresi $y = 0,0607x + 0,0011$ (adisi standar) diperoleh absorban = 0,0011 dan volume akhir 25 mL, dari penambahan kurva adisi 5,00 mL maka faktor pengenceran menjadi 5 x (kali), dari regresi didapatkan konsentrasi 0,0181 ppm dikalikan faktor pengenceran Pb menjadi 0,0906 ppm.

Perhitungan :

$$\frac{1000\text{mL}}{3\text{mL}} \times \frac{25\text{mL}}{1000\text{mL}} \times 0,0906 \text{ mg}/1000\text{mL} = 0,755 \text{ mg}/\text{L},$$

dikonversi menjadi $\mu\text{g}/\text{L}$ konsentrasi timbal (Pb) menjadi 755 $\mu\text{g}/\text{L}$ dan 75 $\mu\text{g}/\text{dL}$., dengan volume sampel darah 3,00 mL.

Tabel L.3.8 Data Penentuan Kurva Baku Larutan Baku pada berbagai konsentrasi

Tabel L.3.8.1 Data Penentuan Kurva Baku Larutan Timbal (Pb) pada konsentrasi : 0,0 – 10 ppm

No.	Xi	Yi	XiYi	Xi ²	Yi ²	(Yi - \bar{Y}) ²
1	0	0	0	0	0	0
2	1	0.0515	0.0515	1	0.0027	-0,0024
3	2	0.1052	0.2104	4	0.0111	0,0513
4	4	0.226	0.904	16	0.0511	0,1721
5	6	0.3156	1.8936	36	0.0996	0,2617
6	8	0.412	3.296	64	0.1697	0,3581
7	10	0.515	5.15	100	0.2652	0,4611
Σ	31	1.6253	11.506	221	0.5994	1,3018

Batas Deteksi Absorbansi Kurva Baku = 0,736 (Y)

Persaman Regresi : $Y = 0,0521x$

$$\bar{x} = \frac{31}{7} = 4,4286 \quad ; \quad \bar{y} = \frac{1,6253}{7} = 0,2322$$

** Batas deteksi pengukuran absorbansi kurva : $Y - Y_B = 3 S_B$

$$Y_B = a = 0,0521$$

$$S_B = (S_{y/x}) = \sqrt{\left(\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n - 2}\right)} = 0,2282$$

$$0,0521 + 3 \times 0,2282 = 0,736 (Y)**$$

Untuk mencari nilai a digunakan persamaan

$$a = \frac{\sum X_i Y_i}{\sum X_i^2} = \frac{11,5055}{221} = 0,0521$$

Koefisien Regresi (R) dari persamaan garis $y = ax$ adalah

$$R^2 = \frac{(n \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i)}{(n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2)(n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2)}$$

$$R^2 = \frac{\{8(111,5055) - (31)(1,6253)\}^2}{(7(221) - (31)^2)(7(0,5994) - (1,6253)^2)}$$

$$R^2 = 0,9983$$

Tabel L.3.8.2 Data Penentuan Blanko Kontrol Kontaminasi Dan Pengukuran Limit Deteksi Kurva Baku Larutan Timbal(Pb) pada konsentrasi : 0,0 – 10 ppm

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0.000	- 0,0001
2	0.000	- 0,0001
3	0.000	- 0,0003
4	0.000	- 0,0005
5	0.000	- 0,0004
6	0.000	- 0,0003
7	0.000	- 0,0004
8	0.000	- 0,0005
9	0.000	- 0,0003
10	0.000	- 0,0001
$\bar{\chi}_{\text{blanko}}$		-0.0003
SD_{blanko}		-0,001
LD_b	$\bar{\chi}_{\text{blanko}} + k(3) SD = - 0.0033 > \bar{\chi}_{\text{blanko}}$	
C_L	k.SB/m : Konsentrasi limit deteksi = 0	

Tabel L.3.8.3 Data Penentuan Kurva Baku Larutan Timbal (Pb) pada konsentrasi : 0,0 – 6 ppm

No	X_i	X_i^2	Y_i	Y_i^2	$X_i Y_i$	$(Y_i - \bar{Y})^2$
1	0	0	-0.0005	$2,5 \times 10^{-7}$	0	0.0234
2	2	4	0.101	0.0102	0.202	0.0027
3	4	16	0.208	0.0433	0.832	0.0031
4	6	36	0.301	0.0906	1.806	0.0221
Σ	12	68	0.6095	0.1441	2.84	0.0512

Batas Deteksi Absorbansi Kurva Baku = 0,3901 (Y)

Persaman Regresi : $Y = 0,0507x$

** Batas deteksi : $Y - Y_B = 3 S_B$

$$Y_B = a = 0,0507$$

$$S_B = (S_y/x) = \sqrt{\left(\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n - 2}\right)} = 0,1131$$

$$0,0521 + 3 \times 0,1131 = 0,3901 (Y)$$

Persamaan garis $y = 0,0507x$

Untuk mencari nilai a digunakan persamaan :

$$a = \frac{\sum X_i Y_i}{\sum X_i^2} = \frac{2,84}{68} = 0,0507$$

Koefisien regresi dari persamaan garis $y = ax$

$$R^2 = \frac{(n \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i)}{(n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2)(n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2)}$$

$$R^2 = \frac{\{4(2,84) - (12)(0,6095)\}^2}{\{4(12) - (68)^2\}\{4(0,1441) - (0,6095)^2\}}$$

$$R^2 = 0,9983$$

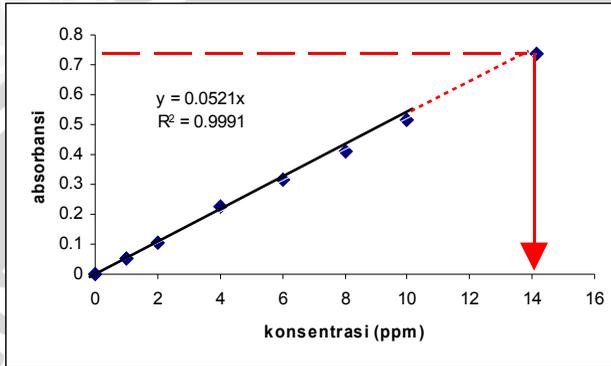
Tabel L.3.8.4 Data Penentuan Blanko Kontrol Kontaminasi Dan Pengukuran Limit Deteksi Kurva Baku Larutan Timbal(Pb) pada konsentrasi : 0,0 – 6 ppm

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0.000	- 0,0005
2	0.000	- 0,0001
3	0.000	- 0,0003
4	0.000	- 0,0005
5	0.000	- 0,0005
6	0.000	- 0,0003
7	0.000	- 0,0004
8	0.000	- 0,0005
9	0.000	- 0,0003
10	0.000	- 0,0001
$\bar{\chi}$ blanko		-0.00035
SD _{blanko}		-0,00117
LD _B C _L		$\bar{\chi} + k(3) SD = -0.00385 > \bar{\chi}$ blanko k.S _B /m : konsentrasi limit deteksi

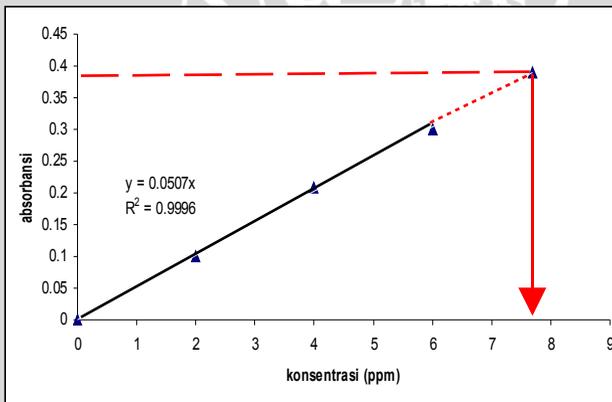
$$= 1,33 \times 10^{-7} \text{ ppm}$$

Lampiran 4

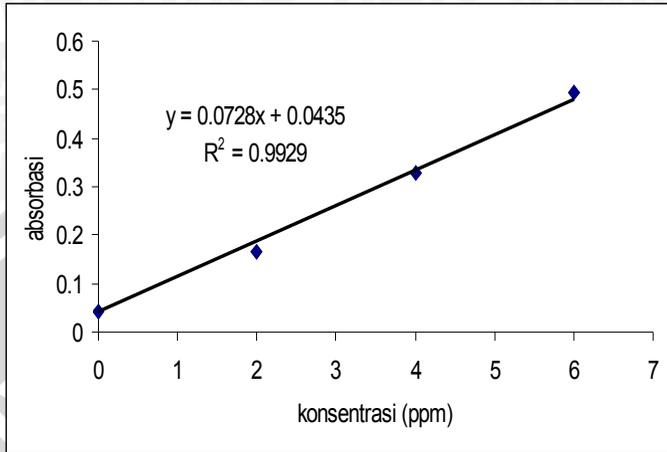
Gambar Kurva Penelitian



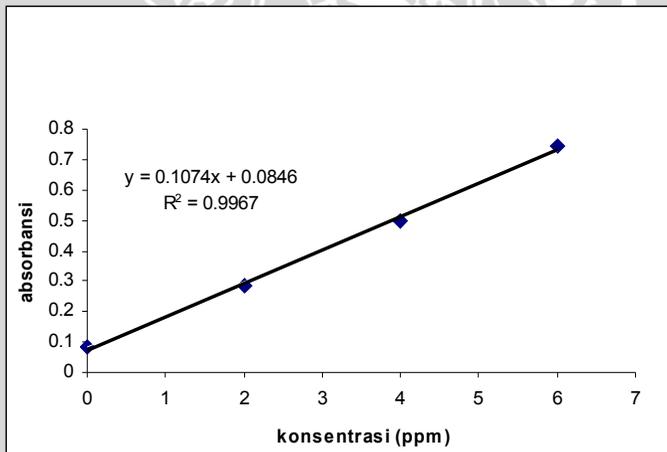
Gambar L.4.1 Kurva Baku Konsentrasi 0,0 - 10 ppm Pb Dan Batas Deteksi Pengukuran Absorbansi



Gambar L.4.2 Kurva Baku Konsentrasi 0,0 - 6 ppm Pb Dan Batas Deteksi Pengukuran Absorbansi



Gambar L.4.3 Kurva Adisi Konsentrasi 0,0 - 6 ppm Pb Dengan Sampel 2 ppm



Gambar L.4.4 Kurva Adisi Konsentrasi 0,0 - 6 ppm Pb Dengan Sampel 4 ppm

Lampiran 5

Data Analisis Statistik

Data sampel *spike* dan *spike* darah dianalisis menggunakan pola rancangan acak kelompok (RAK).

Tabel L.5.1 Penentuan Uji F (ANOVA) sampel *spike*

Perlakuan	2 ppm	4 ppm	6 ppm	Total
D1	1,9383	3,9557	5,9304	11,8244
D2	1,9374	3,9466	5,9405	11,8245
D3	1,9429	3,9440	5,9297	11,8166
D4	1,6788	3,6777	5,6853	11,0418
D5	1,5357	3,5071	5,5243	10,5671
Total	9,0383	19,0311	29,0102	57,0744

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan, maka dilakukan uji F dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menghitung faktor koreksi (FK)

$$FK = \frac{Y^2}{pr} = FK = \frac{57,0744^2}{5 \times 3} = 217,1658$$

2. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$a. JK_{Total} = \left[\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (Y_{ij})^2 \right] - FK$$

$$JK_{Total} = (1,9383^2 + 1,9374^2 + \dots + 5,5243^2) - FK \\ = 40,361$$

$$b. JK_{kelompok} = \frac{\sum j(\sum i Y_{ij})^2}{p} - FK$$

$$JK_{kelompok} = \left(\frac{9,0383^2 + 19,0311^2 + 29,0102^2}{5} \right) - 217,1658 \\ = 39,9273$$

$$c. \quad JK_{\text{Perlakuan}} = \frac{\sum j(\sum iY_{ij})^2}{r} - FK$$

$$JK_{\text{Perlakuan}} = \left(\frac{11,8244^2 + 10,8245^2 + \dots + 10,5671^2}{3} \right) - FK$$

$$= 0,4516$$

$$JK_{\text{Galat Percobaan}} = JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Kelompok}}$$

$$= 0,0179$$

3. Menghitung Kuadrat Tengah (KT)

$$a. \quad KT_{\text{perlakuan}} = \frac{JKP}{dB \text{ perlakuan}} = \frac{0,4516}{4} = 0,1129$$

$$b. \quad KT_{\text{kelompok}} = \frac{JKK}{dB \text{ kelompok}} = \frac{39,9273}{2} = 19,9637$$

$$c. \quad KT_{\text{galat}} = \frac{JK_{\text{galat}}}{dB_{\text{galat}}} = \frac{0,0179}{8} = 0,0022$$

4. Menghitung nilai F

a. F hitung perlakuan

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTP}{KTG} = 51,3$$

b. F hitung kelompok

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTK}{KTG} = 9074,41$$

Menghitung Koefisien Keragaman (KK) dengan rumus $KK = [(KT_{\text{galat}})^{0,5} / \bar{Y}..] \times 100\% = 0,41\%$

Tabel L.5.1.1 Hasil Uji ANOVA

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel α 5%
Perlakuan	4	0,4516	0,1129	51,35*	3,838
Kelompok	2	39,927	19,964	9074*	4,459
Galat	8	0,0179	0,0022		
Total	14				

Hipotesis

H₀ : tidak ada pengaruh dari tiap perlakuan dan kelompok

H₁ : minimal ada sepasang pengaruh menunjukkan perbedaan

1. F_{hitung perlakuan} > F_{tabel} = 51,35 > 3,838
2. F_{hitung kelompok} > F_{tabel} = 9074 > 4,459

F_{hitung} > F_{tabel} pada taraf 5% maka H₀ ditolak dan H₁ diterima. Berarti ada perbedaan yang nyata dalam perlakuan destruksi sampel dan kelompok destruksi sehingga dilakukan uji beda nyata terkecil pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan mana yang pengaruhnya berbeda nyata.

$$\begin{aligned}
 BNT_{(8,5\%)} &= t_{tabel}^{0,05/2} (db_{Galat}) \times \sqrt{(2 \times KT_{Galat} / n)} \\
 &= 2,306 \times \sqrt{2 \times 0,0022 / 4} \\
 &= 0,0765
 \end{aligned}$$

Tabel 5.1.2 Hasil uji BNT untuk sampel spike

Konsentrasi spike (ppm)		2	4	6
		1,8066	3,8060	5,8021
2	1,8066	-	1,9994*	3,9955*
4	3,8060		-	1,9961*
6	5,8021			-

* = significant, berbeda nyata pada taraf 5%
 tn = non significant, berbeda tidak nyata pada taraf 5%

Tabel 5.1.3 Hasil uji BNT untuk sampel *spike* perlakuan

Perlakuan <i>Spike</i> (ppm)		D5	D4	D3	D2	D1
		3,5223	3,6806	3,9389	3,9415	3,9415
D5	3,5223	-	0,1583*	0,4166*	0,4192*	0,4192*
D4	3,6806		-	0,2583*	0,2609*	0,2609*
D3	3,9389			-	0,0026 ^{tn}	0,0026 ^{tn}
D2	3,9415				-	
D1	3,9415					-

* = berbeda nyata pada taraf 5%
^{tn} = berbeda tidak nyata pada taraf 5%

Tabel L.5.2 Penentuan Uji F (ANOVA) sampel *spike* darah

Perlakuan	2 ppm	4 ppm	6 ppm	Total
D1	1,2207	3,0484	4,576	8,8451
D2	1,4278	3,4541	5,183	10,065
D3	1,5713	3,5432	5,342	10,457
D4	1,8437	3,6352	5,327	10,806
D5	1,8803	3,8269	5,852	11,559
Total	7,9438	17,5078	26,280	51,732

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan, maka dilakukan uji F dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menghitung faktor koreksi (FK)

$$FK = \frac{Y^2}{pr} = FK = \frac{51,732^2}{5 \times 3} = 178,41$$

2. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

- a. $JK_{\text{total}} = \sum_i \sum_j Y^2 - FK$

$$JK_{Total} = (1,2207^2 + 1,4278^2 + \dots + 5,852^2) - FK$$

$$= 35,12$$

$$b. JK_{kelompok} = \frac{\sum_j (\sum_i Y_{ij})^2}{p} - FK$$

$$JK_{kelompok} = \left(\frac{7,9436^2 + 17,5078^2 + 26,2800^2}{5} \right) - 178,41$$

$$= 33,64$$

$$c. JK_{perlakuan} = \frac{\sum_j (\sum_i i Y_{ij})^2}{r} - FK$$

$$JK_{perlakuan} = \left(\frac{8,8451^2 + 10,065^2 + \dots + 11,559^2}{3} \right) - FK$$

$$= 1,3468$$

$$JK_{Galat Percobaan} = JK_{Total} - JK_{perlakuan} - JK_{kelompok}$$

$$= 0,1332$$

3. Menghitung Kuadrat Tengah (KT)

$$a. KT_{perlakuan} = \frac{JK_{perlakuan}}{dB_{perlakuan}} = \frac{1,3468}{4} = 0,3367$$

$$b. KT_{kelompok} = \frac{JK_{kelompok}}{dB_{kelompok}} = \frac{33,64}{2} = 16,82$$

$$c. KT_{galat} = \frac{JK_{galat}}{dB_{galat}} = \frac{0,1332}{8} = 0,0167$$

4. Menghitung nilai F

a. F hitung perlakuan

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTG} = 20,16$$

b. F hitung kelompok

$$F_{hitung} = \frac{KTK}{KTG} = 1007,19$$

Menghitung Koefisien Keragaman (KK) dengan rumus $KK = [(KT_{galat})^{0,5} / \bar{Y}..] \times 100\% = 0,012 \%$

Tabel L.5.2.1 Hasil Uji ANOVA

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel α 5%
Perlakuan	4	0,3367	0,3367	20,16*	3,838
Kelompok	2	33,64	16,82	1007*	4,459
Galat	8	0,1332	0,0167		
Total	14				

Hipotesis

H_0 : tidak ada pengaruh dari tiap perlakuan dan kelompok

H_1 : minimal ada sepasang pengaruh menunjukkan perbedaan

1. $F_{hitung\ perlakuan} > F_{tabel} = 20,16 > 3,838$

2. $F_{hitung\ kelompok} > F_{tabel} = 1007 > 4,459$

$F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf 5% maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Berarti ada perbedaan yang nyata dalam pengaruh perlakuan destruksi sampel dan kelompok sampel *spike* darah sehingga dilakukan uji beda nyata terkecil pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan mana yang pengaruhnya berbeda nyata.

$$BNT_{(8,5\%)} = t_{tabel}^{0,05/2}(db_{Galat}) \times \sqrt{(2 \times KT_{Galat} / n)}$$

$$= 2,306 \times \sqrt{2 \times 0,0167 / 4}$$

$$= 0,105$$

Tabel 5.2.2 Hasil uji BNT untuk sampel *spike*

Konsentrasi spike (ppm)		2	4	6
		1,5888	3,5016	5,2560
2	1,5888	-	1,9128*	3,6672*
4	3,5016		-	1,7544*
6	5,2560			-

* = berbeda nyata pada taraf 5%
 tn = berbeda tidak nyata pada taraf 5%

Tabel 5.2.3 Hasil uji BNT untuk sampel *spike* perlakuan

Perlakuan <i>Spike</i> (ppm)		D1	D2	D3	D4	D5
		1,7690	2,0130	2,0914	2,1612	2,3118
D1	1,7690	-	0,2440*	0,3224*	0,3922*	0,5428*
D2	2,0130		-	0,0784 ^{tn}	0,1482*	0,2988*
D3	2,0914			-	0,0698 ^{tn}	0,2204*
D4	2,1612				-	0,1506*
D5	2,3118					-

* = berbeda nyata pada taraf 5%
^{tn} = berbeda tidak nyata pada taraf 5%

Tabel L.5.4 Data statistik uji-t (t-test) untuk sampel konsentrasi 2 ppm dengan kurva adisi dan kurva baku .

Ulangan	baku (ppm)	adisi (ppm)
1	1.9013	1.9918
2	1.8965	1.9762
3	1.9073	1.9670
\bar{x}	1,9017	1,9783
SD	0,0054	0,0125
n	3	
Sp ²	0,0009271	
Sp	0,009628	
t _{hitung}	9,7443	
t _{tabel}	2,92 (90% ; α 0,10)	

$$Sp^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \text{ (nilai dugaan gabungan)}$$

$$t_{hitung} = \frac{(\bar{x}_a - \bar{x}_b) - d_0}{Sp \sqrt{1/n_a + 1/n_b}} : \frac{(1,9783 - 1,9017) - 0}{0,009628 \sqrt{1/3 + 1/3}} = 9,744$$

$H_0 : \mu_b = \mu_a$ atau $\mu_a - \mu_b = d_0 = 0$

$t_{0,05; 2} = 2,92$: ($t < -2,92$ atau $t > 2,92$, $H_1 : \mu_b \neq \mu_a$ atau $\mu_b - \mu_a \neq 0$)

Kesimpulan :

Tolak H_0 , kedua metode pengukuran tidak sama karena nilai t hitung (9,744) besar dari pada t tabel (2,92), maka dapat dikatakan bahwa kurva standar adisi berganda lebih baik daripada metoda kurva baku.

Tabel L.5.5 Data statistik uji-t (t-test) untuk sampel konsentrasi 4 ppm dengan kurva adisi dan kurva baku

Ulangan	baku (ppm)	adisi (ppm)
1	3.8926	3,9385
2	3.7965	3,9716
3	3.8678	3,9645
\bar{x}	3,8523	3,9582
SD	0,04989	0,01743
n	3	
Sp^2	0,001548	
Sp	0,03934	
t_{hitung}	3,2968	
t_{tabel}	2,92 (90%; $\alpha = 0,10$)	

Kesimpulan :

Tolak H_0 , kedua metode pengukuran tidak sama, karena nilai t hitung (3,2968) lebih besar dari pada t tabel (2,92), maka dapat dikatakan bahwa kurva standar adisi berganda lebih baik daripada kurva baku.