



**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE SPEKTROKOPI
SERAPAN ATOM (SSA) UNTUK PENENTUAN LOGAM
KADMIUM (Cd) DAN TIMBAL (Pb) DALAM COKELAT OLAHAN**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**



Oleh:

MOH. TAUFIQ

146090200111005

**PROGRAM STUDI KIMIA
BIDANG MINAT KIMIA ANALITIK**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2016

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

**Pengembangan dan Validasi Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA)
untuk Penentuan Logam Kadmium (Cd) dan Timbal (Pb) dalam Cokelat**

Olahan

Oleh:

MOH. TAUFIQ

146090200111005

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji

pada tanggal 25 Agustus 2016

dan dinyatakan lulus

KOMISI PEMBIMBING

Ketua

Anggota

Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc.

NIP. 197404181997021001

Dr. Ani Mulyasuryani, MS.

NIP. 19630628 199103 2001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S2 Kimia

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS.

NIP. 196304041987011001



**Pengembangan dan Validasi Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA)
untuk Penentuan Logam Kadmium (Cd) dan Timbal (Pb) dalam Cokelat
Olahan**

Nama Mahasiswa : Moh. Taufiq
NIM : 146090200111005
Program Studi : Kimia
Minat : Kimia Analitik

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc.
Anggota : Dr. Ani Mulyasuryani, MS.

TIM DOSEN PENGUJI

Penguji 1 : Dr. Hermin Sulistyarti
Penguji 2 : Dr. Ir. Uswatun Hasanah, M.Si.
Tanggal Ujian : 25 Agustus 2016
SK Penguji :

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Moh. Taufiq

NIM : 146090200111005

Jurusan/kekhususan : Kimia/Kimia analitik

Penulis Tesis yang berjudul : Pengembangan dan validasi metode spektroskopi serapan atom untuk penentuan logam kadmium (Cd) dan timbal (Pb) dalam cokelat olahan

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa:

1. Sepanjang pengetahuan saya, di dalam **naskah tesis** ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.
2. Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini terdapat unsur-unsur **plagiasi**, saya bersedia tesis ini digugurkan dan gelas akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU. No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70)

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 25 Agustus 2016

Mahasiswa,

(Moh. Taufiq)

NIM. 146090200111005



RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

Nama : Moh. Taufiq
 NIM : 146090200111005
 Tempat dan Tanggal Lahir : Sumenep, 07 April 1984
 Alamat : Jl. Tirto Mulyo Gg II, C/5, Griya NKRI
 Klandungan, Landungsari, Dau Malang
 Email : mohtaufiq84@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

Pendidikan

- | | Tahun |
|--|--------------|
| • Madrasah Ibtidaiyah (MI) Tarbiyatus Shibyan Sumenep | 1991-1997 |
| • Madrasah Tsanawiyah (MTs) Ainul Falah Sumenep | 1997-2000 |
| • Madrasah Aliyah (MA) Sumber Bungur Pamekasan | 2000-2003 |
| • S1 Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim (d/h STAIN, UIIS dan UIN) | 2003-2007 |
| • S2 Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang | 2014-2016 |

Sejak tahun 2008 hingga sekarang, penulis mengabdikan sebagai tenaga kependidikan di laboratorium Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Malang, Agustus 2016

Penulis



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT karena berkat limpahan rahmat, taufiq dan hidayahNya penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah berupa tesis dengan judul **“Pengembangan dan Validasi Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA) untuk Penentuan Logam cadmium (Cd) dan Timbal (Pb) dalam Cokelat Olahan”**

Tesis ini dapat terselesaikan dengan baik berkat adanya bantuan dan motivasi dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Sasangka Prasetyawan, M.S., selaku ketua program studi S2 kimia yang selalu memberikan motivasi.
2. Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc dan Dr. Ani Mulyasuryani, M.S. selaku ketua dan anggota pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk selalu memberikan arahan, saran dan masukan kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan naskah akhir tesis ini.
3. Dr. Hermin Sulistyarti dan Dr.Ir. Uswatun Hasanah, M.Si. sebagai dosen penguji I dan II yang telah memberikan saran dan masukan demi perbaikan naskah tesis ini.
4. Seluruh dosen dan staf jurusan Kimia yang telah meluangkan waktu untuk memberi sebagian ilmunya dan memberi fasilitas selama proses perkuliahan.
5. Elok Kamilah Hayati, M.Si. selaku ketua jurusan kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melanjutkan studi magister kimia di Universitas Brawijaya Malang.
6. Istri, anak dan orang tua penulis yang selalu memberikan dukungan, semangat, motivasi sekaligus doa demi kelancaran dan kesuksesan perkuliahan hingga penulisan tesis ini. Penulis sangat bangga dengan kalian bertiga.
7. Teman-teman S2 kimia Universitas Brawijaya Malang, khususnya angkatan 2014 yang selalu menjadi penyemangat dalam menyelesaikan naskah tesis ini.
8. Teman-teman laboran jurusan kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan dukungan moril untuk studi S2 hingga selesainya penulisan tesis ini.

RINGKASAN

MOH. TAUFIQ. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya, 25 Agustus 2016.
Pengembangan dan Validasi Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA) untuk Penentuan Logam Kadmium (Cd) dan Timbal (Pb) dalam Cokelat Olahan; Komisi Pembimbing, Ketua: Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc., Anggota: Dr. Ani Mulyasuryani, MS.

Cokelat merupakan salah satu makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dan berasal dari buah kakao. Mengonsumsi cokelat dapat meningkatkan kinerja insulin dan meningkatkan zat antioksidan. Namun kontaminan logam berat dapat terakumulasi selama pertumbuhan tanaman cokelat, transportasi, pengepakan, bahan baku yang ditambahkan, proses produksi, dan pembungkus yang digunakan. Logam-logam berat berbahaya bagi kesehatan manusia. Kadmium (Cd) terakumulasi dengan mudah di dalam saluran pernafasan dan pencernaan, radang paru-paru, kerusakan ginjal, hati, kanker payudara dan dapat menjadi racun pada tulang. Timbal (Pb) dapat mengurangi tingkat kecerdasan intelektual, menghambat pertumbuhan, merusak ginjal, keguguran, kehilangan keseimbangan, gangguan pendengaran, anemia, bahkan konsentrasi 100 mikrogram per desiliter dalam darah anak dapat mengakibatkan kematian.

Metode preparasi dalam penelitian ini menggunakan destruksi basah sistem gelombang mikro dengan daya 900 wat, sampel 0,2 g dan waktu destruksi 2 menit, kemudian hasil yang diperoleh dibandingkan dengan metode standar SNI 7934:2014 yaitu destruksi kering. Konsentrasi logam Cd dan Pb yang dihasilkan dari destruksi gelombang mikro baik cokelat A maupun B sebesar 1,1 mg/kg dan 1,5 mg/kg, sedangkan destruksi kering (standar) menghasilkan konsentrasi logam Cd dan Pb masing-masing sebesar 0,9 mg/kg dan 1,3 mg/kg. Konsentrasi logam Cd dan Pb yang terkandung dalam cokelat melebihi ambang batas maksimum yang dipersyaratkan oleh SNI 7934:2014 yaitu 0,5 mg/kg untuk Cd dan 1,0 mg/kg untuk Pb.

Hasil uji t independen dengan tingkat kepercayaan 95 % menunjukkan bahwa ketelitian dan ketepatan metode destruksi sistem gelombang mikro yang dikembangkan dan destruksi kering (standar) tidak berbeda secara signifikan, namun secara umum destruksi basah sistem gelombang mikro lebih baik dari pada destruksi kering, karena memiliki beberapa keunggulan yaitu tidak menimbulkan polusi saat destruksi, penguapan analit dapat dihindari, volume sampel dan asam lebih sedikit, waktu destruksi lebih singkat.

Destruksi basah sistem gelombang mikro yang dikembangkan telah memenuhi persyaratan validasi yaitu linieritas dengan koefisien korelasi (r) > 0,99, konsentrasi Cd dan Pb lebih besar dari batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ), standar deviasi relatif (RSD) < 5 %, perolehan kembali mencapai 93,8-103,2 %, dan kekuatan metode cukup baik dengan hasil standar deviasi relatif 2,6 - 4,7 %. Berdasarkan hasil validasi tersebut dapat disimpulkan bahwa destruksi basah sistem gelombang mikro yang dikembangkan dikategorikan sebagai metode preparasi alternatif dalam penentuan logam Cd dan Pb, karena memiliki prosedur yang sangat praktis, mudah, cepat, akurat, teliti dan dapat diandalkan serta dapat digunakan sebagai metode analisis rutin di laboratorium untuk beberapa jenis sampel dengan jumlah yang banyak.

SUMMARY

MOH. TAUFIQ, Magister Program, Brawijaya University, August 25, 2016, *Development and Method Validation of Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) for Determination of Cadmium and lead in chocolate*, The Advisory Committee, Chairman: Akhmad Sabarudin, S.Si., M.Sc., Dr.Sc., Members: Dr. Ani Mulyasuryani, MS.

Chocolate is one of the most widely consumed in Indonesia and is produced from the cocoa. Eating chocolate might increase insulin and increasing antioxidants. However heavy metal contaminants might accumulate during chocolate growth, transportation, packaging, raw materials are added, processing, and wrapping. Heavy metals are harmful to human health. Cadmium (Cd) accumulates easily in the circulatory system, kidney, lung and heart, breast cancer, and can be toxic to bones. Lead (Pb) can reduce the level of intellectual, inhibit growth, kidney damage, miscarriage, loss of balance, hearing disorder, anemia, even a concentration of 100 micrograms per deciliter in the blood of children can cause death.

Preparation methods in this study using a wet digestion by microwave system of total power (900 W), 0.2 g of sample and digestion time 2 minutes, then the results obtained compared with the standard method SNI 7934: 2014 is a dry ashing. Cadmium and lead concentration resulting from the microwave digestion of chocolate A and B at 1.1 mg/kg and 1.5 mg/kg respectively, while dry ashing (standard method) produced metal concentrations of Cd and Pb 0.9 mg/kg and 1.3 mg/kg respectively. The concentrations of Cd and Pb contained in chocolate exceeds the maximum threshold required by SNI 7934: 2014 which is 0.5 mg/kg for Cd and 1.0 mg/kg for Pb.

Results of independent *t* test with a confidence level of 95% indicated that the accuracy and precision of microwave digestion methods of developed and dry ashing (standard method) are not significantly different. However in general the microwave digestion system is better than the dry ashing because of its advantages including sample pollution, limited analyte evaporation, lower sample and acid consumption, shorter digestion time.

Microwave digestion developed has complied to the terms of validation that the linearity with coefficients correlation (r) > 0.99, Cd and Pb concentration greater than the limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ), the relative standard deviation (RSD) < 5%, recovery ranged from 93.8 to 103.2%, and the robustness gave relative standard deviation from 2.6 to 4.7%. Based on the validation results, can be concluded that the microwave digestion of developed categorized as alternative preparation method in the determination of Cd and Pb, the procedure is very practical, easy, fast, accurate, precise, reliable and useful for routine laboratory analyses of a large number of samples.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah atas segala rahmat, taufiq dan hidayahNya yang diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan karya ilmiah berupa tesis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister ilmu kimia yang berjudul **“Pengembangan dan Validasi Metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA) untuk Penentuan Logam Kadmium (Cd) dan Timbal (Pb) dalam Cokelat Olahan”**.

Penelitian tentang pengembangan dan validasi metode ini sengaja dilakukan penulis untuk mencari suatu metode preparasi alternatif yang lebih efektif dan efisien, metode tersebut adalah destruksi menggunakan gelombang mikro rumah tangga tanpa modifikasi. Metode ini dapat digunakan di berbagai laboratorium, karena memiliki prosedur yang sangat praktis, mudah, cepat, akurat, teliti dan dapat diandalkan serta dapat digunakan sebagai metode analisis rutin di laboratorium untuk beberapa jenis sampel dengan jumlah yang banyak.

Penulis menyadari bahwa *“tak ada gading yang tak retak”*, begitu juga dengan hasil penelitian ini masih terdapat beberapa kekurangan baik dari segi teknik penulisan maupun metodologi yang digunakan, dan bahkan penelitian ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat konstruktif selalu penulis harapkan demi perbaikan dan penyempurnaan penelitian-penelitian selanjutnya. Sebagai akhir dari kata pengantar ini, penulis akan menyampaikan salah satu isi kandungan al-quran bahwa *“sesungguhnya Allah tidak menciptakan segala sesuatu dengan sia-sia”*; untuk itu, penulis berdoa semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi secara nyata bagi perkembangan ilmu kimia analitik khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya.

Malang, 25 Agustus 2016

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN TESIS	ii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	iv
RIWAYAT HIDUP	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Batasan Penelitian	6
BAB II STUDI PUSTAKA	7
2.1 Cokelat dan Manfaatnya	7
2.2 Logam Berat Kadmium (Cd)	8
2.2.1 Karakteristik Logam Berat Kadmium (Cd)	8
2.2.2 Bahaya Logam Berat Kadmium (Cd)	8
2.2.3 Logam Berat Kadmium (Cd) dalam Cokelat Olahan	9
2.3 Logam Berat Timbal (Pb)	10
2.3.1 Karakteristik Logam Berat Timbal (Pb)	10
2.3.2 Bahaya Logam Berat Timbal (Pb)	11
2.3.3 Sumber Logam Berat Timbal (Pb) dalam Cokelat	12
2.4 Preparasi Sampel	13
2.4.1 Destruksi Kering	13
2.4.2 Destruksi Basah	14
2.4.3 Destruksi dengan Gelombang Mikro (<i>microwave digestion</i>)	14
2.5 Spektroskopi Serapan Atom (SSA)	17
2.6 Gangguan Pada Spektroskopi Serapan Atom	23
2.6.1 Gangguan Kimia	23
2.6.2 Gangguan Ionisasi	23
2.6.3 Gangguan Matrik	24
2.6.4 Gangguan Emisi	25



2.6.5 Gangguan Spektral.....	25
2.6.6 Gangguan Serapan Latar.....	26
2.7 Gangguan Analisa Logam Berat Cd dan Pb dengan SSA.....	26
2.8 Validasi Metode.....	27
2.8.1 Ketepatan (<i>Accuacy</i>).....	27
2.8.2 Ketelitian (<i>Precision</i>).....	28
2.8.3 Linieritas.....	30
2.8.4 Batas Deteksi Instrumen (IDL).....	30
2.8.5 Batas Deteksi (LOD).....	31
2.8.6 Batas Kuantitasi (LOQ).....	31
2.8.7 Uji Kekuatan Metode (<i>Robustness</i>).....	32
BAB III KERANGKA KONSEP DAN KERANGKA PROSEDURAL.....	33
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	33
3.2 Kerangka Prosedural.....	35
3.3 Hipotesis Penelitian.....	36
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	37
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	37
4.2 Alat dan Bahan.....	37
4.2.1 Alat.....	37
4.2.2 Bahan.....	37
4.3 Tahapan Penelitian.....	38
4.4 Prosedur Penelitian.....	38
4.4.1 Pembuatan Larutan Asam Nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L.....	38
4.4.2 Pembuatan <i>Copper Intermediate Solution</i> 10 mg/L.....	39
4.4.3 Pembuatan Larutan Standar Tembaga (Cu) 1, 2, 3, 4 dan 5 mg/kg.....	39
4.4.4 Uji Kinerja dan Optimasi Spektroskopi Serapan Atom (SSA).....	39
4.4.5 Pembuatan Larutan Standar Kadmium (Cd).....	40
4.4.6 Pembuatan Larutan Standar Timbal (Pb).....	40
4.4.7 Preparasi Sampel.....	40
4.4.8 Destruksi Cokelat Menggunakan Gelombang Mikro (modifikasi dari SNI 7934:2014).....	41
4.4.9 Destruksi Cokelat Menggunakan metode pengabuan (SNI 7934:2014).....	41
4.4.10 Analisis Logam Berat Cd dan Pb Menggunakan SSA-AA240.....	42
4.5 Validasi Metode.....	43
4.5.1 Uji Linearitas.....	43
4.5.2 Uji Batas Deteksi Instrument (IDL).....	43
4.5.3 Uji Batas deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) Metode.....	44
4.5.4 Uji Ketepatan (<i>accuracy</i>).....	44
4.5.5 Uji Ketelitian (<i>Precision</i>).....	45
4.5.6 Uji Kekuatan Metode (<i>Robustness</i>).....	45
4.6 Analisis Data.....	46



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48
5.1 Analisis Kinerja (performance) SSA-AA240 Menggunakan Standar Cu.....	49
5.2 Verifikasi Kinerja Instrumens SSA-AA240 Menggunakan Larutan Standar Cd dan Pb	50
5.3 Destruksi Sampel dengan Metode Basah Sistem Gelombang Mikro dan Metode Kering sistem Pengabuan	51
5.3.1 Destruksi Basah Sistem Gelombang Mikro	51
5.3.2 Destruksi Kering Sistem Pengabuan	55
5.4 Uji t Independen Terhadap Kedua Metode Destruksi.....	57
5.5 Validasi Metode.....	58
1. Linearitas	58
2. Batas Deteksi Instrument (IDL)	60
3. Batas deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) Metode.....	61
4. Ketepatan (accuracy).....	62
5. Ketelitian (Precision)	65
6. Kekuatan Metode (Robustness).....	67
BAB VI KESIMPULAN.....	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN-LAMPIRAN	75



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Cokelat batang 7

Gambar 2.2 Gelombang mikro rumahan 15

Gambar 2.3 Proses absorpsi atom 18

Gambar 2.4 Spektroskopi serapan atom (SSA) model AA240 Varian 20

Gambar 2.5 Skema spektroskopi serapan atom 20

Gambar 3.1 Kerangka prosedural 35

Gambar 5.1 Reaksi logam Cd dan Pb dengan asam nitrat 54

Gambar 5.2 Kurva kalibrasi Cd dan Pb 56 59

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Kondisi instrument SSA-AA240 untuk pengukuran Cd dan Pb dalam coklat	42
Tabel 4.2	Perubahan kondisi pengukuran dengan SSA-AA240	46
Tabel 5.1	Hasil pengukuran standar Cu 3 mg/kg untuk analisis kinerja instrument SSA-AA240	59
Tabel 5.2	Standar deviasi relatif dan perolehan kembali instrument SSA-AA240	50
Tabel 5.3	Hasil pengukuran logam Cd dan Pb dalam coklat	51
Tabel 5.4	Perbandingan hasil destruksi sistem gelombang mikro yang dikembangkan dengan destruksi kering (standar)	55
Tabel 5.5	Perbandingan metode destruksi sistem gelombang mikro yang dikembangkan dengan destruksi kering (standar)	58
Tabel 5.6	Absorbansi blanko untuk menghitung IDL dalam penentuan logam Cd dan Pb	61
Tabel 5.7	Hasil pengukuran HNO ₃ pekat 65 % untuk penentuan batas deteksi metode dan batas kuantitasi logam Cd dan pb dalam coklat	61
Tabel 5.8	Hasil perolehan kembali logam Cd dan Pb dalam coklat	63
Tabel 5.9	Perbandingan metode destruksi sistem gelombang yang dikembangkan dengan gelombang mikro yang lain	64
Tabel 5.10	Hasil uji presisi metode untuk Cd dan Pb pada hari yang sama (<i>intra-day</i>)	66
Tabel 5.11	Hasil uji presisi metode untuk Cd dan Pb pada hari berbeda (<i>inter-day</i>)	66
Tabel 5.12	<i>Robustness</i> (kekuatan metode) pengukuran logam Cd dan Pb dalam coklat	67



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cokelat olahan merupakan produk hasil pengolahan biji kakao melalui serangkaian tahapan pemanasan, pendinginan, penghalusan, pengayakan (mesh), penambahan gula dan susu skim, serta pencetakan sehingga terbentuklah cokelat batang yang siap dikonsumsi (Indarti, dkk., 2013). Mengonsumsi cokelat dapat berdampak positif yaitu meningkatkan sensitivitas insulin dan meningkatkan zat antioksidan dalam darah (Surja, dkk., 2010). Namun, disisi lain kontaminan logam berat dapat terakumulasi selama pertumbuhan tanaman cokelat, transportasi, pengepakan, bahan baku yang ditambahkan, peralatan produksi, dan wadah yang digunakan (Suherni, 2010 dan Zhong, dkk., 2016).

Studi penelitian tentang logam berat dalam cokelat pernah dilakukan di Mumbai India dengan 69 merk cokelat. Hasilnya menunjukkan bahwa cokelat mengandung logam berat Pb, Cd, dan Ni dengan konsentrasi berturut-turut sebesar 0,93 µg/g, 0,105 µg/g, dan 1,63 µg/g (Sudhir, dkk., 2005). Penelitian yang sama juga pernah dilakukan oleh Gideon, *et al* (2015) yang menunjukkan bahwa makanan cokelat mengandung logam berat Cd, Cu, Ni dan Zn dengan konsentrasi masing-masing sebesar 1,95 µg/g, 14,15 µg/g, 2,90 µg/g, dan 20,02 µg/g.

Menurut Zhong, dkk., (2016) dan Sudhir, dkk., (2005) menyebutkan bahwa logam-logam berat sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Timbal (Pb) dapat mengakibatkan kanker, mengganggu saluran pernafasan dan pencernaan, serta mengurangi tingkat kecerdasan intelektual. Kadmium (Cd) dikategorikan sebagai



logam berat yang sangat mudah terakumulasi dalam sistem peredaran darah, ginjal, paru-paru dan merupakan racun bagi tulang dan organ reproduksi. Atas dasar banyaknya bahaya yang ditimbulkan dari adanya logam berat, maka pemerintah Indonesia melalui badan standarisasi nasional (BSN) telah menetapkan dan memutuskan batas maksimum cemaran logam berat pada cokelat dengan nomor SNI 7934:2014 yaitu sebesar 0,5 mg/kg untuk kadmium (Cd), dan 1,0 mg/kg untuk logam timbal (Pb) (BSN, 2014).

Metode standar yang digunakan untuk analisis cemaran logam Cd dan Pb pada cokelat ialah metode SNI 7934:2014 dengan metode spektroskopi serapan atom, sedangkan preparasi sampel menggunakan sistem destruksi kering pada suhu 450 °C dan menurut Patricia, G., *et al.*, (2015) waktu destruksi yang dibutuhkan adalah 4-5 jam. Sumardi (1981) menyatakan bahwa metode destruksi kering memiliki beberapa kekurangan antara lain: pertama, suhu yang digunakan sangat tinggi sehingga dapat mengakibatkan terjadinya penguapan yang berdampak pada hilangnya sebagian logam yang terikat dengan molekul organik dalam sampel. Kedua, waktu yang dibutuhkan untuk proses pengabuan cukup lama yaitu kurang lebih 5-6 jam, artinya kurang efisien. Pernyataan ini diperkuat oleh Sudarmadji (2003) yang mengatakan bahwa apabila suhu yang digunakan terlalu tinggi dan tidak sesuai dengan analit yang akan dianalisis, maka dapat mengakibatkan hilangnya unsur-unsur mikro dalam sampel karena proses penguapan.

Salah satu alternatif untuk menyelesaikan permasalahan di atas adalah melakukan suatu modifikasi metode destruksi basah menggunakan gelombang mikro. Gelombang mikro merupakan salah satu cara untuk pemberian masukan



energi ke dalam sampel sehingga terjadi proses reaksi kimia. Pemanasan dengan gelombang mikro memiliki beberapa kelebihan yaitu campuran reaksi secara homogen dipanaskan tanpa kontak dengan wadah sampel, waktu reaksi secara signifikan lebih cepat dibanding dengan sistem pemanasan konvensional (Harber dan Stoepler, 1994), menghilangkan polusi saat destruksi, menghindari penguapan analit, dan penggunaan asam lebih sedikit (Zhong, dkk., 2016).

Penjelasan di atas juga didukung dengan hasil penelitian Dias dan Wickramasinghe (2016) tentang destruksi logam Cr, Ni, Cd, As, Sb, dan Pb pada berbagai jenis coklat menggunakan gelombang mikro dalam waktu 15 menit.

Hasilnya sangat efektif dan dapat diandalkan karena mendapatkan perolehan kembali berkisar 91,15-93,80 %. Hasil yang baik ini disebabkan frekuensi 2,45

GHz yang dilepaskan gelombang mikro dapat menembus seluruh sampel dan diserap secara merata, akibatnya terjadi gesekan antar ion yang dapat menghasilkan panas sehingga larutan dapat mendidih dengan waktu lebih cepat (Mitra, 2003). Disamping itu, proses destruksi dilakukan dalam keadaan tertutup menggunakan vessel polietilen sehingga penguapan organologam dapat dihindari (Zhong, 2016).

Terdapat beberapa hal yang membedakan antara penelitian ini dibandingkan dengan penelitian Dias dan Wickramasinghe (2016). Pada penelitian Dias dan Wickramasinghe (2016) berat sampel yang digunakan 0,25 gram, konsentrasi asam nitrat 69 % (15,4 mol/L), waktu destruksi 15 menit, menggunakan gelombang mikro START D-MILSTONE, sedangkan dalam penelitian ini berat sampel 0,2 gram, konsentrasi asam nitrat 65 % (14,3 mol/L), waktu destruksi 2 menit, menggunakan gelombang mikro rumahan (*domestic microwave*).



Metode destruksi basah dengan sistem gelombang mikro dalam penelitian ini merupakan pengembangan dari metode standar SNI 7934:2014, sehingga perlu dilakukan validasi terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai metode analisis rutin pada sampel nyata. Alasan penting dilakukannya validasi adalah untuk mengkonfirmasi bahwa metode destruksi basah sistem gelombang mikro yang dikembangkan adalah benar-benar sesuai dengan persyaratan yang telah ditentukan seperti ketepatan dan ketelitian. Purwanto, A., dkk., (2007) dan Hanjani (2013) menjelaskan bahwa validasi metode dilakukan guna memastikan metode analitik yang digunakan benar-benar sesuai dengan tujuan tertentu dan secara ilmiah dapat diaplikasikan di laboratorium.

Berdasarkan ISO/IEC 17025:2005, metode yang perlu dilakukan validasi oleh suatu laboratorium antara lain metode baru dan metode standar yang sedang dikembangkan. Upaya untuk memperoleh suatu metode yang valid memerlukan beberapa parameter yang harus dilakukan meliputi; ketepatan (*accuracy*), ketelitian (*precision*), linieritas, batas deteksi instrument (IDL) batas deteksi dan batas kuantitasi metode (LOD dan LOQ), dan uji kekuatan metode (*Robustness*). Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan metode standar SNI 7934:2014 menggunakan uji t independen dengan tingkat kepercayaan 95 %.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut.

1. Bagaimanakah proses destruksi logam Cd dan Pb dalam coklat olahan menggunakan sistem gelombang mikro ?



2. Bagaimana proses validasi metode destruksi logam Cd dan Pb dalam cokelat olahan menggunakan sistem gelombang mikro ?

3. Apakah pengembangan metode destruksi logam Cd dan Pb dalam cokelat menggunakan metode destruksi gelombang mikro memenuhi persyaratan validasi ?

4. Bagaimana perbandingan ketelitian dan ketepatan hasil metode penentuan logam Cd dan Pb menggunakan metode destruksi sistem gelombang mikro dan metode standar SNI 7934:2014 ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui proses destruksi logam Cd dan Pb dalam cokelat olahan menggunakan sistem gelombang mikro.

2. Mengetahui proses validasi metode destruksi logam Cd dan Pb dalam cokelat olahan menggunakan sistem gelombang mikro.

3. Mendapatkan hasil pengembangan metode destruksi logam Cd dan Pb dalam cokelat menggunakan sistem gelombang mikro yang memenuhi persyaratan validasi.

4. Mengetahui perbandingan ketelitian dan ketepatan metode penentuan logam Cd dan Pb menggunakan metode destruksi sistem gelombang mikro dan metode standar SNI 7934:2014 ?

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan kontribusi secara nyata bagi lembaga penelitian pada umumnya dan peneliti khususnya, antara lain:



1. Mengetahui proses destruksi logam menggunakan gelombang mikro.
2. Dapat dijadikan sebagai metode analisis rutin di laboratorium untuk menentukan logam Cd dan Pb dalam sampel nyata.
3. Dapat dijadikan metode preparasi alternatif dalam menetapkan kadar logam kadmium (Cd) dan timbal (Pb) pada cokelat.

1.5 Batasan Penelitian

Mengingat luasnya cakupan permasalahan dalam penelitian ini, maka penulis akan memberikan batasan-batasan masalah yang meliputi:

1. Sampel cokelat yang digunakan adalah cokelat batang jenis a dan b
2. Proses destruksi dilakukan dengan menggunakan gelombang mikro (MODENA-2502) tanpa modifikasi, pereaksi asam nitrat pekat 65 %, lama destruksi 2 menit.
3. Parameter validasi yang dilakukan yaitu akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi dan kekuatan metode (*robustness*).



BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Cokelat dan Manfaatnya

Cokelat merupakan makanan yang berasal dari biji kakao yang diproses melalui serangkaian tahapan pemanasan, pendinginan, dan pengadukan dengan kecepatan rendah (Indarti, dkk., 2013). Cokelat termasuk salah satu makanan yang sangat digemari oleh hampir seluruh masyarakat di dunia, khususnya Indonesia. Cokelat dikonsumsi oleh masyarakat dari berbagai usia, mulai dari anak-anak, remaja, bahkan orang dewasa.



Gambar 2.1 Cokelat Batang

Surja, dkk., (2010) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa di dalam cokelat terdapat kandungan senyawa kimia asam stearat dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut dapat memiliki dampak yang berbeda-beda bagi kesehatan baik positif maupun negatif. Dampak positif mengonsumsi cokelat antara lain dapat meningkatkan sensitivitas insulin, meningkatkan aktivitas sel beta pankreas pada penderita diabetes mellitus, dan peningkatan antioksidan dalam darah. Adapun



dampak negatifnya antara lain dapat mengakibatkan obesitas, karies gigi, jerawat, migraine, dan kolesterol tinggi.

2.2 Logam Berat Kadmium (Cd)

2.2.1 Karakteristik Logam Berat Kadmium (Cd)

Kadmium adalah logam yang berbentuk kristal putih kebiruan (*bluish-white*) yang mudah dipotong, memiliki titik leleh 320,9 °C dan titik didih 765 °C, termasuk golongan logam transisi. Kadmium termasuk salah satu logam alami yang terdapat dalam kerak bumi. Secara umum kadmium berada dalam persenyawaan dengan logam lain seperti oksigen (*cadmium oxide*), klorin (*cadmium chloride*) dan belerang (*cadmium sulfide*). Senyawaan Cd ini stabil, dan tidak mudah menguap, namun kadmium oksida sering dijumpai sebagai partikel kecil dalam udara. Kebanyakan kadmium merupakan produk samping dalam pengecoran seng, timah atau tembaga (Herber, and Stoeppler, 1994).

Kadmium merupakan unsur alami yang terdapat dalam perut bumi dan dapat ditemukan bersamaan dengan unsur lain seperti oksigen, sehingga memudahkan kadmium mengendap di dalam perairan. Logam berat kadmium lebih mudah terakumulasi di dalam tanaman dibandingkan dengan logam lain seperti timbal (Pb). Kadmium ini termasuk logam berat dengan tingkat bahaya yang tertinggi pada kesehatan manusia (Murniasih dan Taftazani, 2013).

2.2.2 Bahaya Logam Berat Kadmium (Cd)

Kadmium merupakan salah satu jenis logam berat yang memiliki sifat berbahaya apabila masuk ke dalam tubuh manusia. Masuknya logam berat

kadmium ke dalam tubuh disebabkan oleh makanan yang dikonsumsi telah terkontaminasi dengan logam tersebut. Adanya logam berat kadmium dalam tubuh dapat menimbulkan penyakit antara lain penderita merasakan sakit pada bagian tulang yang biasa disebut dengan penyakit itai-itai. Apabila penyakit ini tidak segera diatasi atau tetap berkelanjutan dapat mengakibatkan penderita menjadi lumpuh dan patah tulang di beberapa bagian tubuh (Murniasih dan Taftazani, 2013). Disamping penyakit di atas, manusia yang mengalami keracunan kadmium dapat mengakibatkan sesak nafas, radang paru-paru, kerusakan ginjal, hati, dan kanker payudara (Istarani, dkk., 2014). Atas dasar tingginya bahaya logam kadmium pada kesehatan manusia, pemerintah Indonesia melalui badan standarisasi nasional (BSN) dengan nomor SNI 7934:2014 menetapkan ambang batas cemaran logam berat kadmium pada produk coklat dan kakao adalah sebesar 0,5 mg/kg.

2.2.3 Logam Berat Kadmium (Cd) dalam Cokelat Olahan

Logam berat Cd di dalam coklat dapat berasal dari tanaman coklat yang ditanam di lahan dataran rendah yang dapat mengalami degradasi lahan maupun terkontaminasi logam berat (Darmono, 1995). Disamping itu, logam berat Cd dapat juga berasal dari tanaman coklat yang dialiri air sungai yang telah tercemar limbah industri yang mengandung logam Cd. Limbah tersebut umumnya sulit didegradasi (*non degradable*) oleh mikroorganisme sehingga dapat terakumulasi dan diserap oleh tumbuhan melalui akar (Erdayanti, dkk.,2015). Selanjutnya terdistribusi pada seluruh bagian tumbuhan termasuk buah yang dihasilkan (Heriyanto, 2011).





Hasil penelitian Setiawan (2013) tentang analisis logam berat pada vegetasi mangrove dan *avicennia marina* ditemukan bahwa terdapat logam berat Cd pada akar mangrove sebesar 3,1 mg/kg, dan pada *avicennia marina* sebesar 30,9 mg/kg.

Logam berat Cd yang terdapat dalam akar, batang, dan buah seperti cokelat pada akhirnya sampai pada hirarki rantai makanan tertinggi yaitu manusia. Menurut

Saeni (1997) logam berat seperti kadmium dapat terakumulasi di dalam tubuh suatu organisme dengan jangka waktu yang lama sehingga menjadi racun.

Penelitian lain telah menyebutkan bahwa 19 jenis cokelat dilaporkan terkontaminasi logam berat Cd. Sumber utama kontaminasi logam berat Cd tersebut berasal dari bahan baku pembuatan cokelat, proses produksi dan pengolahan cokelat yang dilakukan di dalam alat berbahan baja, dan pencucian logam dari *vessel* yang digunakan. Logam Cd yang masuk ke dalam tubuh dapat terakumulasi di dalam ginjal dan hati dan dapat mengakibatkan proteinuria atau terdapatnya sejumlah protein yang melebihi batas normal yaitu lebih dari 7 µg/kg berat badan atau pada anak-anak dengan berat badan 15 kg lebih dari 105 µg/minggu (Sudhir, dkk.,2005).

2.3 Logam Berat Timbal (Pb)

2.3.1 Karakteristik Logam Berat Timbal (Pb)

Timbal memiliki nomor atom 82 dengan berat molekul 207,20 g/mol, titik leleh 327 °C, titik didih 1740 °C, memiliki berat jenis 11,3 g/cm³ (20 °C).

Timbal berwarna kebiru-biruan atau abu-abu keperakan (Merck Index, 2010).

Logam berat timbal merupakan logam yang paling banyak ditimbulkan dari asap kendaraan bermotor yang menggunakan bahan bakar bertimbal, dari biji logam



hasil pertambangan, peleburan, pabrik pembuatan timbal atau *recycling* industri, debu, tanah, cat, mainan, perhiasan, air minum, permen, keramik, obat tradisional, pupuk posfat, pestisida, tanaman, sayuran dan kosmetik (Suherni, 2010).

2.3.2 Bahaya Logam Berat Timbal (Pb)

Menurut Murniasih dan Taftazani (2013) dalam penelitiannya mengatakan bahwa logam berat timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat yang paling berbahaya bagi kesehatan manusia. Keracunan logam berat timbal merupakan salah satu penyakit tertua dalam sejarah peradaban manusia. Saat ini penyakit akibat terpaparnya logam berat timbal menjadi masalah yang serius karena dapat menyerang manusia dari berbagai usia, namun anak-anak, usia muda, wanita hamil dan pekerja industri akan mendapatkan resiko yang lebih besar dibanding dengan kelompok lainnya. Wanita yang bersentuhan dengan timbal memiliki resiko besar menularkannya pada anak mereka selama masa kehamilan dan menyusui karena timbal yang di cerna oleh wanita hamil dapat mengalir melalui plasenta dan berakibat fatal pada janin atau jabang bayi (NHMRC, 2009).

Suherni, (2010) juga menjelaskan bahwa terdapat beberapa penyakit yang diakibatkan dari keracunan timbal antara lain mengurangi tingkat IQ, menghambat pertumbuhan dan merusak ginjal, keguguran, kehilangan keseimbangan, gangguan pendengaran, anemia, merusak alat pendengaran, bahkan konsentrasi timbal 100 mikrogram per desiliter dalam darah anak dapat mengakibatkan kematian.

2.3.3 Logam Berat Timbal (Pb) dalam Cokelat Olahan

Sumber logam berat Pb dalam buah-buahan seperti cokelat bermacam-macam. dapat berasal dari tanaman cokelat yang ditanam di daerah dekat dengan aliran sungai yang tercemar dengan limbah industri yang mengandung Pb, asap kendaraan yang menggunakan bahan bakar bertimbal, serta berasal dari tanah yang sudah tercemar logam Pb dan kemudian diserap oleh akar tumbuhan (Suherni 2010).

Hasil penelitian yang ditemukan oleh Charlena (2004), menjelaskan bahwa pupuk fosfat yang banyak digunakan oleh petani di Indonesia mengandung Pb yang cukup besar yaitu dengan kisaran 5-156 mg/kg. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi Pb dalam tanah semakin meningkat apabila dilakukan pemupukan terus menerus. Penggunaan pestisida dan herbisida juga mempengaruhi peningkatan kadar Pb dalam tanah, sehingga Pb dapat terakumulasi di dalam tumbuhan dan terdistribusi pada seluruh bagian tumbuhan.

Hasil penelitian Dias dan Wickramasinghe (2016) telah melaporkan bahwa sumber kontaminasi logam berat pada cokelat dapat berasal dari bahan pangan yang ditambahkan, peralatan produksi yang digunakan serta bahan pembungkus cokelat yang beraneka warna. Kebanyakan perusahaan menggunakan wadah atau pembungkus cokelat yang tidak diperuntukkan pada makanan seperti pewarna yang digunakan mengandung $PbCrO_4$ dan tidak cocok untuk makanan, karena $PbCrO_4$ merupakan bahan khusus pewarna cat dan tinta. Bahan tersebut dapat berpotensi untuk berpindah pada makanan yang dibungkusnya sehingga terkontaminasi logam berat Pb yang berdampak negatif pada kesehatan.





2.4 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan salah satu cara untuk menentukan keberhasilan suatu analisis. Pada penentuan logam, preparasi sampel umumnya menggunakan metode destruksi. Destruksi merupakan suatu proses pemutusan ikatan atau perombakan organologam di dalam sampel menjadi logam-logam anorganik bebas sehingga dapat dianalisis. Secara umum terdapat dua jenis destruksi yaitu destruksi kering dan basah (Akinyele dan Shokunbi, 2015).

2.4.1 Destruksi Kering

Destruksi kering merupakan salah satu cara perombakan organik logam di dalam sampel menjadi logam-logam anorganik bebas. Perombakan ini dilakukan dengan cara pengabuan sampel dalam tanur pada suhu pemanasan tertentu. Penentuan suhu pengabuan sangat tergantung pada jenis sampel yang akan dianalisis. Sudarmadji (2003) mengatakan bahwa apabila suhu yang digunakan terlalu tinggi dan tidak sesuai dengan analit yang akan dianalisis, maka dapat mengakibatkan hilangnya unsur-unsur mikro dalam sampel karena proses penguapan. Disamping itu, dimungkinkan terdapat reaksi antara sampel dengan wadah yang digunakan.

Menurut SNI (7934:2014) destruksi kering diawali dengan menghancurkan sampel, kemudian dipanaskan di atas pemanas listrik untuk mengurangi kadar air. Selanjutnya diabukan dalam tanur pada suhu ± 450 °C selama kurang lebih 4-5 jam (Patrici, *et al.*, 2015), abu yang dihasilkan dilarutkan dengan 3 mL HNO_3 pekat 65 % dan ditanur kembali. Abu yang dihasilkan diencerkan dengan 5 mL HCl 6 mol/L dan 10 mL HNO_3 0,1 mol/L,



Menurut Sudarmadji (2003) fungsi pereaksi asam nitrat dan asam klorida untuk mempercepat proses destruksi dan menurunkan suhu pengabuan yaitu 350 °C.

2.4.2 Destruksi Basah

Menurut Christiane, D. *et al.*, (2007), proses destruksi basah dengan asam dan pemanasan merupakan salah satu perlakuan awal untuk menghilangkan matrik dalam sampel. Destruksi basah dapat menggunakan beberapa jenis asam antara lain asam nitrat (HNO_3), asam klorida (HCl), asam sulfat (H_2SO_4), dan asam perklorat (HClO_4) serta dibantu pemanasan pada suhu 130 °C, dilakukan di dalam lemari asap (*fume hood*) (Gideon, 2015). Asam-asam tersebut dapat digunakan tunggal maupun campuran 2 (dua) jenis asam seperti $\text{HCl}:\text{HNO}_3$ (aqua regia dengan perbandingan 3:1) (Sudarmadji, 2003). Destruksi basah ini memiliki beberapa keuntungan antara lain proses dekomposisi logam dari komponen lain lebih cepat, analit logam tetap berada dalam larutan, tidak memerlukan suhu pemanasan terlalu tinggi sehingga penguapan analit dapat dihindari.

2.4.3 Destruksi dengan Gelombang Mikro (*microwave digestion*)

Gelombang mikro atau *microwave* merupakan radiasi elektromagnetik dengan kisaran frekuensi 300 MHz sampai dengan 30 GHz dan 2,45 GHz (panjang gelombang 12,3 cm) untuk gelombang mikro industri atau rumahan (*domestic microwave*). Gelombang mikro adalah radiasi yang dapat mempengaruhi gerakan molekul, akan tetapi tidak merubah struktur molekul. Absorpsi gelombang mikro menyebabkan peningkatan suhu yang sangat cepat pada reaktan, solven, dan produk. Apabila bahan-bahan yang mengandung

garam, asam kuat dan basa kuat dipanaskan dalam *vessel* tertutup maka dapat menaikkan tekanan sehingga pemanasan solven semakin meningkat atau *superheating*. Hal ini terjadi karena energi yang dipancarkan dari gelombang mikro dapat disebar secara merata melalui konduksi ionik (Fini dan Breccia, 1999).



Gambar 2.2 Gelombang mikro rumahan (dokumen penelitian)

Gambar 2.2 di atas terlihat bahwa ruang gelombang mikro dilengkapi dengan piring pemutar yang secara otomatis berputar saat dioperasikan, hal ini bertujuan agar gelombang mikro dapat diserap oleh sampel secara merata. Energi gelombang mikro tidak dapat berinteraksi dengan bahan yang terbuat dari kertas, gelas dan plastik, namun hanya berinteraksi dengan bahan yang dipanaskan (Mitra, 2003).

Destruksi dengan gelombang mikro menggunakan bejana tertutup telah terbukti empat kali lebih cepat dibandingkan dengan pemanasan konvensional seperti pemanas api tradisional, pemanas listrik, maupun teknik tungku pengabuan. Destruksi gelombang mikro lebih mudah digunakan lebih akurat, lebih reproduksibel, dan bebas dari kontaminasi, tidak ada asam yang hilang selama proses destruksi dan tidak terjadi penguapan analit (Patnaik, 2004 dan Rehana, 2009). Pemanasan menggunakan gelombang mikro mengalami peningkatan apabila cairan atau padatan yang dipanaskan mengubah energi



elektromagnetik menjadi panas. Efek panas ditimbulkan dari medan listrik gelombang mikro yang mengakibatkan perputaran dipol dan perubahan ion dari respon lambat menjadi cepat mengikuti medan listrik (Fini dan Breccia, 1999). Patricia, *et al.*, (2015) telah melakukan penelitian penggunaan gelombang mikro pada proses destruksi logam dan terbukti sangat efektif karena waktu yang dibutuhkan 10-25 menit. Penelitian lain juga telah melaporkan bahwa gelombang mikro dapat mendestruksi logam Pb, Cd, Cr, Cu, dan Ni pada beberapa jenis teh dalam waktu 10 menit (Zhong, dkk., 2016).

Pemanasan menggunakan gelombang mikro berbeda dengan pemanasan konvensional. Energi panas pada pemanasan konvensional ditransfer ke bahan yang dipanaskan melalui konduksi dan konveksi, sedangkan pemanasan menggunakan gelombang mikro energi elektromagnetik berubah menjadi panas melalui konduksi ionik dan perputaran dipol. Konduksi ion mengacu pada pergerakan ion dalam larutan di bawah medan elektromagnetik dan menimbulkan gesekan antara ion dan larutan sehingga menimbulkan panas. Sementara perputaran dipol mengacu pada perputaran molekul terpolarisasi untuk menyesuaikan diri dengan medan elektromagnetik dengan kecepatan $4,9 \times 10^9$ kali per detik (Mitra, 2003).

Kemampuan suatu bahan atau material untuk meningkatkan suhu pemanasan menggunakan gelombang mikro pada frekuensi dan suhu tertentu disebut dengan faktor disipasi (tangensial) yang ditunjukkan pada persamaan 1.

$$\text{Tang}\delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (1)$$

Keterangan : ϵ'' adalah dielektrik *loss factor*
 ϵ' adalah konstanta dielektrik



Dielektrik *loss factor* berhubungan dengan efisiensi medium untuk mengubah suatu energi gelombang mikro menjadi panas, sedangkan konstanta dielektrik merupakan ukuran kemampuan suatu molekul untuk polarisasi akibat medan listrik. Pada saat menggunakan gelombang mikro, proses reaksi kimia tergantung pada sifat dielektrik pelarut yang digunakan. Pelarut yang dapat menyerap gelombang elektromagnetik secara langsung, maka kecepatan reaksi dari reaktan semakin meningkat. Disamping itu, penggunaan pelarut-pelarut yang bersifat polar dengan berat molekul rendah dan konstanta dielektrik tinggi dapat meningkatkan suhu pemanasan secara cepat sehingga titik didih tercapai dalam waktu singkat (Fini dan Breccia, 1999).

Costa, *et al*, (2001) menyebutkan bahwa suhu pemanasan pada gelombang mikro dipengaruhi oleh daya yang digunakan, semakin besar daya yang digunakan pada gelombang mikro maka semakin tinggi pula kenaikan suhu yang dihasilkan. Hubungan antara daya dan kenaikan suhu ditunjukkan pada persamaan 2.

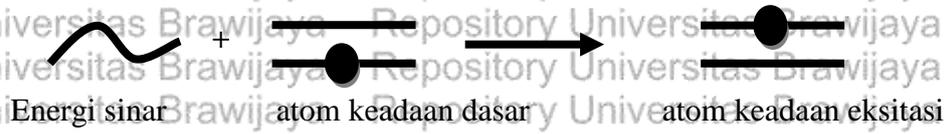
$$P = 4.184 \text{ m Cp } \Delta T t^{-1} \quad (2)$$

Persamaan di atas menunjukkan bahwa daya yang diserap oleh sampel (P) berbanding lurus dengan perubahan suhu (ΔT) yang dihasilkan, kapasitas panas ditunjukkan dengan simbol (Cp), m adalah massa (g) dan t waktu pemanasan, dengan demikian jika daya yang digunakan semakin besar maka kenaikan suhu juga semakin besar.

2.5 Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Spektroskopi serapan atom merupakan salah satu alat yang digunakan untuk menganalisis elemen atau logam tertentu. Prinsip SSA didasarkan pada interaksi antara atom/unsur yang dianalisis dengan energi radiasi elektromagnetik

yang dipancarkan oleh lampu katoda spesifik. Lampu katoda akan memancarkan radiasi pada panjang gelombang yang khas/spesifik sehingga apabila dalam sampel terdapat unsur lain selain analit tidak akan menyerap radiasi katoda. Jumlah energi yang diserap oleh atom sebanding dengan konsentrasi atom yang dianalisis. Apabila atom menyerap energi maka kulit terluar dari atom terlepas dan mengalami proses eksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Analytical Methods for AAS, 1996), dengan proses adsorpsi atom sebagai berikut.



Gambar 2.3 Proses absorpsi atom
(Sumber: buku manual SSA-AA240, 1996)

Metode SSA merupakan metode yang spesifik untuk mengukur kadar logam yang terdapat dalam sampel dengan konsentrasi kecil (skala mg/kg).

Metode ini memiliki kelebihan antara lain waktu analisis hanya dalam hitungan detik per sampel, memiliki sensitivitas yang tinggi, memiliki ketelitian yang baik.

Disamping itu, metode SSA dapat diaplikasikan pada hampir semua jenis logam, penggunaannya lebih mudah dan biaya cukup murah. Instrument SSA dilengkapi

dengan lampu katoda, nebulezer, burner, monokromator, detektor seperti *multiplier tube*, cerobong asap. Selain itu, terdapat bagian pendukung seperti gas asetilena, nitrogen oksida, dan kompresor.

Adapun sistem analisisnya diawali dengan mengukur absorbansi larutan standar yang sudah diketahui konsentrasinya. Selanjutnya absorbansi yang dihasilkan dihitung menggunakan persamaan garis lurus yang diperoleh dari





analisis kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbansi yaitu $y = ax + b$, atau $y = ax$, tergantung pada nilai titik potong yang dihasilkan (b). Persamaan ini mengacu pada hukum Lambert beer yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi, maka semakin besar pula absorbansi yang dihasilkan, sesuai dengan persamaan 3.

$$A = \epsilon bc \quad (3)$$

Di mana

A = absorbansi

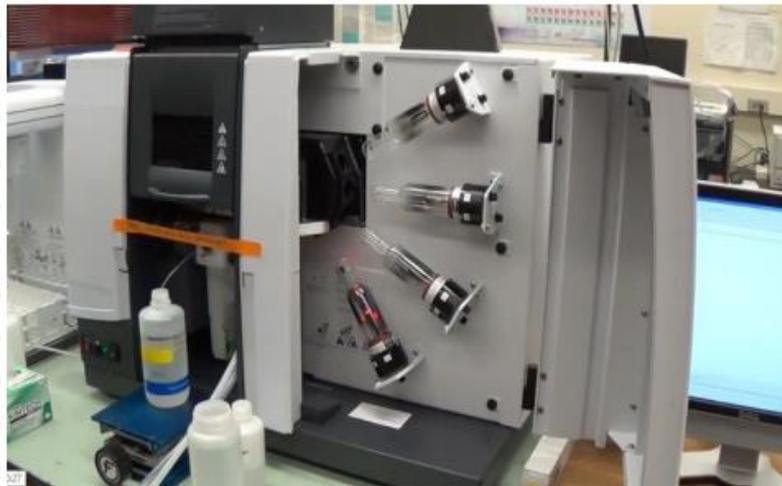
ϵ = absorpsivitas molar/absorban larutan 1 molar dalam sel (kuvet)

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi (mol/L)

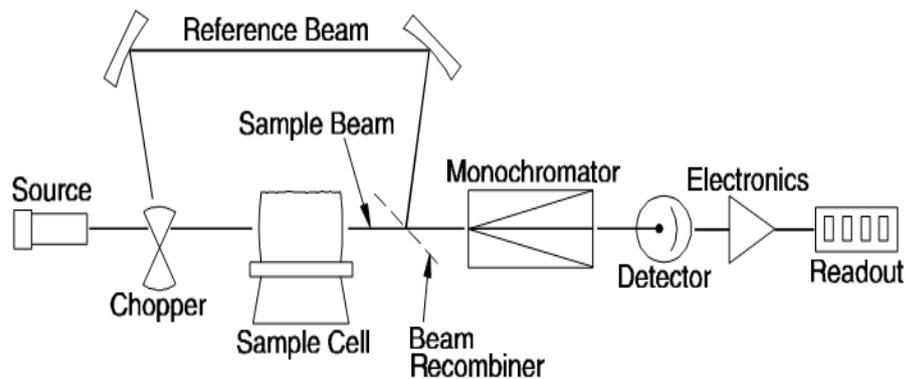
Sudarmadji (2003) menjelaskan bahwa rumus di atas menggambarkan bahwa jumlah radiasi yang diserap proporsional terhadap ketebalan kuvet, absorpsivitas molar dan konsentrasi senyawa atau atom pada sampel dan panjang gelombang tertentu, dengan asumsi bahwa:

1. Radiasi sinar datang harus monokromatis.
2. Spesi penyerap (molekul, atom, ion, dll) independen satu sama lain.
3. Radiasi sinar datang merupakan berkas paralel yang tegak lurus dengan permukaan media penyerap.
4. Radiasi sinar melintasi media penyerap dengan panjang yang sama.
5. Media penyerap homogen dan tidak menyebabkan penghamburan sinar.
6. Radiasi sinar datang mempunyai intensitas yang tidak terlalu besar yang menyebabkan efek saturasi.



Gambar 2.4 Spektroskopi serapan atom (SSA) model AA240 Varian

Adapun komponen-komponen yang terdapat dalam spektroskopi serapan atom (SSA) antara lain lampu katoda, burner, monokromator, detektor dan detektor. Komponen tersebut dapat dijelaskan dalam bentuk skema yang dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



Gambar 2.5 Skema spektroskopi serapan atom

(Sumber: manual book for AAS, 1996)

Berdasarkan Gambar 2.5 di atas dapat dijelaskan bahwa terdapat beberapa komponen penyusun instrumen SSA antara lain:

- a. Lampu Katoda Berongga atau *Hallow Cathode Lamp (HCL)*



Lampu katoda berfungsi sebagai sumber radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang spesifik sesuai dengan logam yang akan dianalisis.

Lampu katoda merupakan sumber radiasi yang sangat stabil dan cocok untuk kebanyakan unsur. Lampu katoda terbuat dari logam tertentu yang dilapisi gelas silinder berongga. Silinder berongga berbahan kuarsa agar transmisi yang dipancarkan menjadi optimum. Lampu katoda terdiri dari rongga katoda dan anoda. Rongga katoda berlapis logam murni, dari unsur yang akan dianalisis. Misalnya unsur yang dianalisis Pb, maka lampu katoda dilapisi logam Pb, sedangkan rongga anoda terbuat dari logam tungsten atau wolfram (W). Arus yang dikeluarkan lampu katoda memiliki besaran berbeda-beda, tergantung pada jenis lampu katodanya, sedangkan penggunaan arus tergantung pada kebutuhan analisis (buku manual AA240, 1989).

b. *Chopper*

Chopper merupakan alat pemecah sinar yang berputar dengan frekuensi dan kecepatan tertentu, disamping itu alat tersebut berfungsi membedakan radiasi yang berasal dari lampu katoda dan nyala api/ *flame*.

c. *Nebulizer*

Nebulizer merupakan alat yang terletak di bawah burner, berbahan teflon yang berguna sebagai tempat terjadinya proses pengkabutan sampel dan tempat untuk mengubah sampel menjadi aerosol. Di dalam nebulizer dilengkapi dengan alat *glass bead*, *mixing paddle* atau *flow spoiler*, *spray chamber* dan *drainase* atau pembuangan. *Glass bead* berfungsi untuk menghamburkan sampel yang tersedot ke dalam nebulizer sehingga sampel larutan berubah menjadi kabut-kabut halus. *Mixing paddle* berfungsi untuk



menghancurkan atau menghaluskan padatan terlarut yang terdapat pada sampel, hal ini dapat meningkatkan efisiensi atomisasi. *Spray chamber* merupakan tempat berkumpulnya kabut-kabut halus atau uap yang sudah terbentuk dan bercampur dengan gas (aerosol). Kabut-kabut inilah kemudian naik menuju burner dan selanjutnya terjadi proses atomisasi nyala.

d. *Tungku/Burner*

Burner yang sering digunakan untuk kebutuhan analisis di laboratorium yaitu asetilen/udara dan asetilen/nitro oksida. Kedua burner ini digunakan sesuai dengan jenis logam yang akan dianalisis. Masing-masing burner memiliki suhu nyala yang berbeda.

Burner dengan gas pembakar asetilen/nitro oksida akan menghasilkan suhu lebih tinggi yaitu berkisar $2900-3000^{\circ}\text{C}$ dan akan membentuk warna nyala merah (*red corn*) tepat di atas permukaan burner, sedangkan gas pembakar asetilen udara memiliki suhu sekitar 2300°C . Burner dengan gas pembakar asetilen/nitro oksida umumnya digunakan untuk analisis elemen atau unsur-unsur yang sulit teratomisasi dengan burner asetilen udara. Misalnya analisis kalsium (Ca). Suhu atomisasi kalsium lebih tinggi dibanding dengan unsur lain, sehingga burner yang cocok digunakan adalah asetilen/nitro oksida.

e. *Monokromator*

Fungsi dari monokromator adalah memilih panjang gelombang spesifik yang diemisikan oleh lampu katoda termasuk gas yang ada di dalamnya. Panjang gelombang yang monokromatis sesuai dengan analit yang sedang analisis.



f. Detektor

Detektor berfungsi sebagai penghasil signal atau meneruskan garis resonansi dari monokromator, kemudian merubah sinyal radiasi elektromagnetik yang diemisikan oleh lampu katoda menjadi sinyal elektrik dalam bentuk data yang bisa dipahami oleh manusia. Umumnya detektor yang digunakan berupa *multiplier tube* (MPT) yang memiliki kecepatan respon sebesar 10^{-9} per detik.

g. Perekam/Recorder

Fungsi dari alat perekam untuk mengukur respon detektor dan menterjemahkan dalam bentuk pengukuran analitik (absorbansi dan konsentrasi). Hal ini dapat diartikan sebagai perekam seluruh data yang dihasilkan selama proses analisis berlangsung umumnya digunakan *interface* dan komputer.

2.6 Gangguan Pada Spektroskopi Serapan Atom

Spektroskopi serapan atom merupakan metode yang sangat spesifik dengan sedikit gangguan pada saat proses analisis. Di dalam buku manual *analytical methods for atomic absorption spectroscopy* disebutkan bahwa ada 6 (enam) kategori gangguan spektroskopi serapan atom yaitu gangguan kimia, gangguan ionisasi, gangguan matrik, gangguan emisi, gangguan spektral dan gangguan latar (*background absorption*) (Perkin Elmer, 1996). Adapun gangguan-gangguan tersebut dan cara mengatasinya dijelaskan di bawah ini.

2.6.1 Gangguan Kimia

Gangguan ini disebabkan adanya unsur asing yang dapat berikatan kuat dengan logam yang akan diukur, sehingga proses atomisasi tidak berjalan dengan sempurna. Cara mengatasi gangguan ini dapat dilakukan dengan cara menambahkan logam lain yang dapat berikatan lebih kuat dan stabil dengan zat pengganggu. Misalnya menambahkan larutan lantanum klorida pada analisis logam kalsium dengan menggunakan nyala nitro oksida-asetilena.

2.6.2 Gangguan Ionisasi

Gangguan ionisasi ini biasanya disebabkan suhu nyala pada burner yang terlalu tinggi, hal ini dapat mengakibatkan sampel yang dianalisis akan mengalami ionisasi karena panas yang terlalu tinggi. Adanya gangguan suhu tinggi tersebut dapat diminimalisir dengan cara menambahkan zat lain ke dalam sampel, namun lebih mudah mengalami ionisasi dan menghasilkan banyak electron sehingga dapat mengurangi ionisasi logam yang dianalisis. Unsur yang dapat ditambahkan yaitu unsur alkali seperti Na, K, Rb, dan Cs.

2.6.3 Gangguan Matrik

Gangguan matrik merupakan gangguan yang disebabkan adanya unsur-unsur atau senyawa-senyawa lain yang terkandung di dalam sampel. Adanya matrik ini mengakibatkan sifat-sifat fisik (viskositas, karakteristik burner, tegangan permukaan) dari setiap sampel dan standard berbeda. Gangguan ini dapat terjadi apabila: (1) konsentrasi sampel sangat tinggi dengan menggunakan pelarut garam dan asam, (2) pelarut yang digunakan untuk sampel dan standard

berbeda, (3) ketika temperatur nyala yang digunakan untuk sampel dan standard sangat berbeda (*radically different*).

Kadar matrik yang berbeda mengakibatkan atomisasi berbeda, sehingga proses penyerapan radiasi oleh atom dari katoda juga berbeda. Hal ini dapat diatasi dengan menambahkan metanol yang dapat meningkatkan efisiensi signal absorbansi pada saat proses pengkabutan sehingga dapat meningkatkan jumlah sampel dalam nyala. Cara lain yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini adalah dengan menggunakan metode penambahan standar (*standard addition method*).

2.6.4 Gangguan Emisi

Gangguan ini umumnya terjadi pada analit dengan konsentrasi yang tinggi. Tingginya konsentrasi analit yang dianalisis menggunakan metode spektroskopi serapan atom terkadang menghasilkan emisi yang besar. Hal ini dapat mengakibatkan ketelitian analisis yang tidak bagus. Beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini dapat diatasi dengan cara menurunkan lebar celah, meningkatkan arus lampu katoda, melakukan pengenceran sampel dan penggunaan alat pendingin nyala.

2.6.5 Gangguan Spektral

Gangguan spektral ini terjadi karena adanya tumpang tindih adsorpsi antara zat pengganggu dengan analit yang sedang dianalisis. Hal ini terjadi karena garis resonansinya berdekatan. Gangguan seperti ini jarang sekali terjadi karena setiap atom memiliki serapan pada panjang serapan yang khas atau karakteristik.

Cara mengatasi gangguan spektral dapat dilakukan dengan cara memilih panjang





gelombang karakteristik yang lain atau dengan mengatur lebar celah (*slit width*) yang lebih sempit.

2.6.6 Gangguan Serapan Latar

Terjadinya gangguan serapan latar disebabkan sinar radiasi dari lampu katoda diserap oleh senyawa lain (yang tidak teratomisasi) yang terdapat dalam sampel atau di dalam nyala yang diukur. Menurut Basset, dkk., (1994) menyebutkan bahwa gangguan serapan latar dapat dikoreksi dengan dua cara yaitu teknik sumber kontinu dan teknik efek Zeeman yaitu suatu Peristiwa terpecahnya spektrum garis menjadi garis-garis halus dalam medan magnet.

2.7 Gangguan Analisa Logam Berat Cd dan Pb dengan SSA

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaporkan, bahwa tidak ada gangguan kationik pada saat analisis logam Pb menggunakan nyala api udara-asetilen, namun sejumlah gangguan anionik seperti fosfat, karbonat, iodida, florida dan asetat dapat mengganggu saat proses analisis Pb. Anion-anion tersebut dapat menurunkan atau justru meningkatkan absorbansi Pb secara signifikan, sehingga hasil yang diperoleh kurang akurat. Gangguan ini sebagian besar dapat diatasi dengan penambahan larutan EDTA 0,1 mol/L pada sampel dan standar (manual book AA-240, 1989) atau dengan penambahan matrik *modifier* $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ sebanyak 40 mg/ml (BSN, 2014). Sedangkan pada analisis logam berat Cd telah dilaporkan tidak ada gangguan kimia yang utama ketika menggunakan nyala api udara-asetilen (Buku manual AA-240, 1989).



2.8 Validasi Metode

Validasi adalah konfirmasi bahwa suatu alat uji atau metoda uji memenuhi persyaratan yang ditentukan (sesuai tujuan tertentu) dengan cara menguji alat uji dan metoda uji dengan melengkapi bukti-bukti yang obyektif (ISO/IEC 17025, 2005 dan Supriyanto, dkk, 2006). Validasi biasanya digunakan untuk metode analisa yang baru dibuat dan dikembangkan. Apabila metode yang akan digunakan memang telah tersedia dan baku (misalnya dari AOAC, ASTM, SNI) dan baru pertama kali akan digunakan di laboratorium tertentu biasanya tidak perlu dilakukan validasi, namun hanya verifikasi. Proses validasi instrument dapat dilakukan dengan kalibrasi yang dilakukan oleh lembaga khusus yang berwenang, setelah itu dianalisis sensitivitas dan ketelitiannya. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan standar yang telah ditentukan, kemudian dilakukan pengujian terhadap sampel sebagai bukti apakah instrument telah berfungsi dengan baik atau tidak (Supriyanto, 2007).

Beberapa parameter analisis yang dapat dipertimbangkan dalam proses validasi metode. Parameter-parameter tersebut antara lain akurasi (ketepatan), uji sensitivitas (presisi), uji *linieritas*, *instrument detection limit* (IDL), *methods detection limit* (MDL) atau *limit of detection* (LOD), *limit of quantification* (LOQ), *ruggedness*, dan *robustness* (Harmita, 2004 dan Wegscheider, 1996).

2.8.1 Ketepatan (*Accuracy*)

Ketepatan (*accuracy*) merupakan suatu hasil pengukuran yang mendekati nilai sebenarnya (AOAC, 1993). Salah satu cara yang dilakukan untuk mengetahui ketepatan hasil suatu analisis antara lain; uji persentase perolehan

kembali atau disebut dengan *spiking method* dan uji sampel yang hasilnya dibandingkan dengan *sertificate reference material* (SRM). Uji persentase perolehan kembali dapat dilakukan dengan cara mengukur kadar logam dari 2 sampel sama, namun salah satu sampel ditambahkan larutan standar yang sudah diketahui konsentrasinya namun tidak berbeda jauh dengan konsentrasi sampel tanpa standar. Selanjutnya dihitung perolehan kembali dengan cara seperti pada **persamaan 4**.

Menurut Ravichandran, *et al.* (2010) menjelaskan bahwa saat ini metode untuk mengetahui keakuratan sedang dikembangkan, beberapa cara yang telah dilakukan antara lain: pertama, menganalisis sampel yang diketahui konsentrasinya, dan hasilnya dibandingkan dengan nilai sebenarnya. Biasanya menggunakan standar yang dijadikan sebagai acuan nilai sebenarnya. Kedua, menganalisis dengan metode *spiking* yaitu dengan cara mengukur konsentrasi sampel, kemudian sampel yang sudah diketahui konsentrasinya ditambahkan larutan standar yang diketahui konsentrasinya namun perbedaannya tidak terlalu jauh dengan konsentrasi sampel. Selanjutnya dihitung persen perolehan kembali (*recovery*). Persen perolehan kembali dapat dihitung dengan rumus persamaan 4.

$$\text{Perolehan kembali (\%)} = \frac{[S+Std] - [Std]}{[\text{sampel tanpa Std}]} \times 100 \quad (4)$$

Keterangan:

[S+Std] = konsentrasi sampel yang ditambahkan standar

[Std] = konsentrasi standar yang ditambahkan

2.8.2 Ketelitian (*Precision*)

Ketelitian atau presisi merupakan kemiripan hasil suatu analisis yang dilakukan pada sampel secara berulang-ulang, baik pada hari yang sama ataupun

berbeda, dilakukan analisis yang sama maupun analisis yang berbeda. Uji ketelitian ini untuk mengetahui seberapa dekat hasil pengukuran antara ulangan satu dengan ulangan yang lain (Harmita, 2004).

Presisi dinyatakan sebagai presentase *Relative Standard Deviation* (RSD) dari suatu seri pengukuran menggunakan persamaan 5 dan 6 (Sumardi, 2002).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (5)$$

$$\text{Standar deviasi relatif (RSD) (\%)} = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (6)$$

Keterangan:

\bar{x} = nilai rata-rata pengukuran

\bar{x} = nilai rata-rata pengukuran

n = jumlah ulangan

RSD menunjukkan ketelitian dari metode uji :

$RSD \leq 1\%$: sangat teliti

$1\% < RSD \leq 2\%$: teliti

$2\% < RSD \leq 5\%$: ketelitian sedang

$RSD > 5\%$: tidak teliti

Namun jika komponen yang dianalisis merupakan *trace analysis* maka presentase standar deviasi relatif (RSD) yang disyaratkan adalah $0\% \pm 20\%$, artinya bahwa pada kisaran $0 \pm 20\%$ metode uji tergolong teliti.

Adapun cara mengevaluasi hasil presisi suatu metode dapat menggunakan *repeatability* dan *reproducibility*. *Repeatability* merupakan cara mengetahui presisi melalui suatu percobaan dalam kondisi yang sama baik hari pelaksanaan maupun analisis yang melakukan percobaan. *Reproducibility* dilakukan dalam kondisi berbeda baik hari pelaksanaan maupun analisis yang melakukan percobaan.



2.8.3 Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil absorbansi yang sebanding dengan konsentrasi larutan standar yang diuji (Sadia, *et al.*, 2015). Nilai absorbansi yang dihasilkan dari larutan standar dihubungkan dengan konsentrasi (menggunakan excel) sehingga membentuk suatu kurva atau grafik dan memperoleh suatu persamaan garis lurus.

Bukti adanya hubungan yang proporsional antara absorbansi dan konsentrasi (linear) maka digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier

$y = a + bx$. Menurut Miller dan Miller, (1991) harga koefisien korelasi (r) ini sebaiknya $> 0,99$. Perhitungan dapat dilakukan menggunakan persamaan 7.

$$r = \frac{\sum XY - \frac{\sum X \sum Y}{n}}{\sqrt{\left(\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}\right) \left(\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}\right)}} \quad (7)$$

Keterangan :

n = jumlah ulangan

X = konsentrasi

Y = absorbansi

2.8.4 Batas Deteksi Instrument (IDL)

Instrument Detection Limit (IDL) atau batas deteksi instrument adalah batas kemampuan suatu instrument dalam mendeteksi suatu analit yang terdapat dalam blanko. Umumnya dilakukan dengan cara mengukur serapan dari 7 larutan blanko dan diukur konsentrasinya menggunakan persamaan regresi yang dihasilkan dari kurva standar. Selanjutnya dihitung standart deviasi dari hasil pembacaan alat. Besaran batas deteksi instrumen (IDL) adalah 3 (tiga) kali standart deviasi (Purwanto, dkk., 2007).

2.8.5 Batas Deteksi (LOD)

Limit of Detection atau batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis menggunakan instrumen atau tidak. Apabila analisis tidak menggunakan instrumen, maka batas deteksi ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Jika analisis dengan instrumen, batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko (Harmita, 2004).

Penentuan limit deteksi dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi x/y ($SD_{x/y}$) dan kemiringan (*slope*) linieritas baku menggunakan persamaan 8 dan 9.

$$SD_{x/y} = \sqrt{\frac{\sum(y - \bar{y})^2}{n-1}} \quad (8)$$

$$LoD = \frac{3 \times SD_{x/y}}{\text{slope}} \quad (9)$$

2.8.6 Batas Kuantitasi (LOQ)

Batas kuantitasi atau *limit of quantification* merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat ditentukan/dideteksi secara kuantitatif melalui akurasi dan presisi (B.K. Kolita, 2010). Baik batas deteksi maupun batas kuantitasi ini dapat ditentukan dengan garis regresi linear yang diperoleh dari kurva baku. Perhitungan LOQ dilakukan dengan cara 10 dikali hasil standar deviasi ($LOQ = 10 \times SD/\text{slop}$) (Harmita, 2004). Apabila konsentrasi analit dalam sampel lebih kecil dari hasil perhitungan LOQ, maka hasil analisa tidak akan terdeteksi *non-detectable* (ND).

2.8.7 Uji Kekuatan Metode (*Robustness*)

Robustness adalah suatu cara yang dilakukan untuk menguji kekuatan suatu metode dengan cara merubah sebagian kecil metodologi atau kondisi operasi secara terus menerus, kemudian dilakukan pengecekan terhadap presisi dan akurasi (Harmita, 2004). Umumnya metode *robustness* difokuskan pada aspek instrumentasi yang digunakan untuk validasi. Misalnya, perubahan kondisi operasi instrument (Sadia, *et al.*, 2015) dan Chen, W.C., (2015). Menurut Abarca, A., (2001) beberapa perubahan yang dilakukan untuk menguji kekuatan metode antara lain perubahan kondisi operasi AAS antara lain perubahan *slit width*, arus lampu katoda (mA), panjang gelombang (nm), *smoothing*, *read dealy* (detik), deuterium (D2) *background correction*, dan perubahan volume pereaksi yang digunakan.





BAB III

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

Cokelat merupakan salah satu makanan yang sangat digemari oleh masyarakat Indonesia karena dapat meningkatkan sensitivitas insulin dalam darah, namun kontaminan logam berat dapat terakumulasi di dalam cokelat sejak proses pertumbuhan, transportasi, pengepakan, penambahan bahan baku dan proses produksi. Sebuah penelitian yang dilakukan di India pada tahun 2005 ditemukan bahwa di dalam cokelat terkandung logam berat Cd dan Pb masing-masing 0,105 µg/g dan 0,93 µg/g. Kedua logam tersebut memiliki dampak yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia.

Salah satu metode yang digunakan untuk analisis cemaran logam Cd dan Pb dalam cokelat yaitu SNI 7934:2014. Metode ini menggunakan sistem destruksi kering dengan tanur pada suhu 450 °C dalam waktu 4-5 jam, bahkan 6 jam. Metode ini setidaknya memiliki tiga kekurangan yaitu: pertama, suhu yang digunakan sangat tinggi dan dalam kondisi terbuka sehingga mengakibatkan terjadinya penguapan yang berdampak pada hilangnya sebagian analit dalam sampel. Kedua, waktu yang dibutuhkan untuk proses pengabuan cukup lama yaitu kurang lebih 4-5 jam dan suhu tinggi 450 °C sehingga mengakibatkan terjadinya reaksi antara sampel dengan wadah yang digunakan.

Atas dasar hal tersebut, penulis akan melakukan suatu modifikasi atau pengembangan metode destruksi basah sistem tertutup menggunakan gelombang mikro (*microwave digestion system*) dengan pereaksi asam nitrat (HNO₃) 65 %

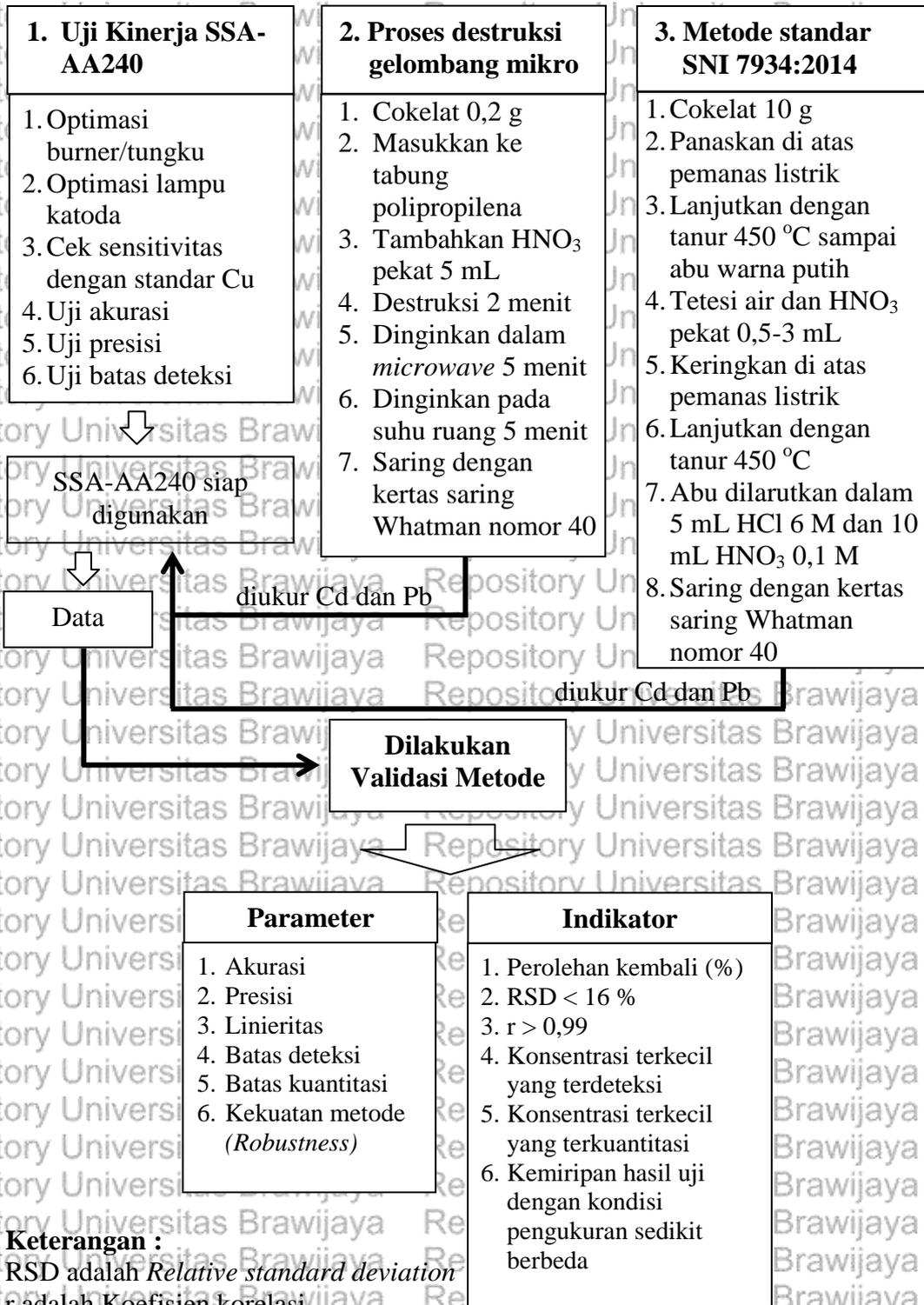
dan lama destruksi 2 menit. Proses destruksi ini memiliki beberapa keunggulan yaitu energi gelombang mikro dapat diserap secara merata oleh sampel dan tidak oleh wadah yang digunakan, mengurangi polusi saat destruksi, waktu destruksi lebih cepat, mengurangi penguapan analit dari sampel, penggunaan asam lebih sedikit, dan mudah digunakan.

Metode ini perlu dilakukan validasi, karena merupakan pengembangan dari metode standar. Hal ini sesuai dengan standar internasional ISO/IEC 17025 yang menyebutkan bahwa salah satu metode yang perlu dilakukan validasi adalah metode standar yang dikembangkan atau dimodifikasi. Parameter validasi metode yang dilakukan meliputi ketepatan (*accuracy*), ketelitian (*precision*), linieritas, batas deteksi instrument (IDL), batas deteksi metode (LOD), batas kuantitasi (LOQ), dan uji kekuatan metode (*Robustness*). Selanjutnya hasil yang diperoleh dibandingkan dengan metode standar SNI 7934:2014.

Hasil modifikasi atau pengembangan metode penentuan logam berat Cd dan Pb dalam coklat olahan diharapkan dapat memenuhi persyaratan validasi seperti akurasi dan presisi yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai metode analisis rutin di laboratorium dan dapat dijadikan sebagai metode alternatif yang lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan metode standar yang sudah ada.

3.2 Kerangka Prosedural

Kerangka prosedural penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1 di bawah ini.



Gambar 3.1 Kerangka Prosedural



3.3 Hipotesis Penelitian

1. Hasil pengembangan metode destruksi logam Cd dan Pb menggunakan sistem gelombang mikro memenuhi persyaratan validasi yaitu akurasi, presisi, linieritas, LOD, LOQ, dan *robustness*.
2. Metode destruksi gelombang mikro yang dikembangkan memiliki ketepatan dan ketelitian lebih baik dibandingkan destruksi kering (standar SNI 7934:2014).



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2016 sampai dengan bulan Agustus 2016, bertempat di laboratorim kimia analitik dan instrumentasi jurusan kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan laboratorium kimia lingkungan Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: spatula plastik, gelas arloji, tabung polipropilena, rak tabung, erlenmeyer 100 mL, pipet volume ukuran 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; dan 10 mL, pipet ukur 5 mL, pipet tetes, *beaker glass* 100 mL, bola hisap, botol semprot, corong gelas, labu ukur 5 mL, labu ukur 20 mL, labu ukur 25 mL, labu ukur 50 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 500 mL, timbangan analitik (Kern ALJ240), gelombang mikro rumahan (*domestic microwave*) model MODENA 2502 tanpa modifikasi, tanur (*thermo scientific*) spektroskopi serapan atom model AA240 varian Australia.

4.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain; asam nitrat (HNO_3) 65 % (merck), akuabides (*pro injection*), larutan standar tembaga (Cu) (Merck-SRM), standar timbal (Pb) (Merck-SRM), standar kadmium (Cd) (Merck-



SRM) dengan konsentrasi 1000 mg/kg (Merck CRM/SRM), larutan standar Cu 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm, asam nitrat (HNO_3) 0,5 M (hasil pengenceran), tembaga nitrat.

4.3 Tahapan Penelitian

- a. Pembuatan larutan asam nitrat 0,5 mol/L
- b. Pembuatan larutan standar Cu 10 mg/kg dari $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1000 mg/kg
- c. Pembuatan larutan standar Cu 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/kg
- d. Uji Kinerja dan Optimasi Spektroskopi Serapan Atom (SSA)
- e. Pembuatan Larutan Standar Kadmium (Cd) 0,02; 0,04; 0,1; 0,2; dan 0,4 mg/kg
- f. Pembuatan Larutan Standar Timbal (Pb) 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 dan 1,4 mg/kg
- g. Preparasi Sampel
- h. Destruksi Cokelat Menggunakan Gelombang Mikro
- i. Destruksi Cokelat Menggunakan Metode Pengabuan
- j. Analisis Logam Berat Cd dan Pb Menggunakan SSA-AA240
- k. Validasi Metode
 1. Analisis Data

4.4 Prosedur Penelitian

4.4.1 Pembuatan Larutan Asam Nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L

Pipet sebanyak 17,6 mL asam nitrat 65 %, masukkan ke dalam labu ukur 500 mL yang berisi akuabides, kemudian encerkan dengan akuabides sampai tanda batas dan beri label dengan jelas.

4.4.2 Pembuatan Larutan Standar Cu 10 mg/kg

Siapkan larutan stok standar Cu 1000 mg/kg, pipet larutan standar tersebut sebanyak 1 mL, masukkan ke dalam labu ukur 100 mL, encerkan dengan asam nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L sampai tanda batas dan beri label dengan jelas.

4.4.3 Pembuatan Larutan Standar Cu 1, 2, 3,4 dan 5 mg/kg

Pipet sebanyak 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL dan 10 mL larutan standar Cu 10 mg/kg, masing-masing masukkan ke dalam labu ukur 20 mL, kemudian encerkan dengan asam nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L sampai tanda batas dan beri label sesuai konsentrasi Cu. Absorbansi diukur menggunakan menggunakan SSA AA240 pada panjang gelombang 324 nm.

4.4.4 Uji Kinerja dan Optimasi Spektroskopi Serapan Atom (SSA) (buku Manual AA240, 1989)

Regulator gas pembakar asetilen dan udara diputar pada posisi terbuka, kemudian kompresor dinyalakan, alat SSA-AA240 dan komputer dinyalakan, setelah itu dibiarkan selama 30 menit untuk proses pemanasan. Selanjutnya dilakukan optimasi lampu katoda tembaga (Cu) hingga mencapai kondisi optimum, optimasi burner dan *nebulezer adjustmen*. Kondisi optimum tercapai apabila pengecekan larutan standar Cu 1,5 mg/kg memberikan serapan 0,2 A (*Cook book AA-240*). Selanjutnya larutan standar Cu yang sudah dibuat diukur pada panjang gelombang 324 nm dan ditentukan nilai akurasi, presisi, dan batas deteksi instrumen (IDL).



4.4.5 Pembuatan Larutan Standar Kadmium (Cd) 0,02; 0,04; 0,1; 0,2; dan 0,4 mg/kg

Pipet sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,5 mL, 1 mL dan 2 mL larutan standar Cd 10 mg/kg, masing-masing masukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian encerkan dengan asam nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L sampai tanda batas dan beri label sesuai dengan konsentrasi Cd. Absorbansi diukur menggunakan SSA AA240 pada panjang gelombang 228,8 nm.

4.4.6 Pembuatan Larutan Standar Timbal (Pb) 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 dan 1,4 mg/kg

Pipet sebanyak 0,5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL dan 7 mL larutan standar Pb 10 mg/kg, masing-masing masukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian encerkan dengan asam nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L sampai tanda batas dan beri label sesuai konsentrasi Pb. Absorbansi diukur menggunakan SSA-AA240 pada panjang gelombang 283 nm.

4.4.7 Preparasi Sampel

Sampel coklat jenis bars dan milk dipotong kecil-kecil dengan pisau plastik, ditimbang sebanyak 0,2 g menggunakan spatula plastik dan gelas arloji. Selanjutnya disiapkan 10 buah tabung polipropilena dan masing-masing diisi 0,2 g coklat yang sudah ditimbang dan dilabeli sesuai jenis coklat, lalu ditambahkan asam nitrat (HNO_3) 65 % sebanyak 5 mL. Sampel siap didestruksi menggunakan gelombang mikro.



4.4.8 Destruksi Cokelat Menggunakan Gelombang Mikro (modifikasi dari SNI 7934:2014)

Sampel cokelat yang sudah disiapkan dalam tabung polipropilena dimasukkan ke dalam rak tabung khusus gelombang mikro, dinyalakan alat gelombang mikro (MODENA 2502) tanpa modifikasi, tingkat pemanasan 100 % dan daya 900 watt, diatur lama destruksi selama 2 menit. Setelah itu didinginkan di dalam gelombang mikro 5 menit dan pada suhu kamar 5 menit, kemudian disaring menggunakan kertas Whatman 40. Filtrat dianalisis menggunakan SSA pada panjang gelombang 228,8 nm untuk Cd dan 283 untuk Pb.

4.4.9 Destruksi Cokelat Menggunakan Metode Pengabuan (SNI 7934:2014)

Ditimbang 10 g sampel dan dimasukkan ke dalam krusibel porselen, dipanaskan di atas pemanas listrik sampai tidak muncul asap lagi, kemudian dilanjutkan pengabuan dalam tanur pada suhu 450 °C sampai abu berwarna putih (bebas karbon), jika abu masih keabu-abuan, ditetaskan air beberapa tetes, dan HNO₃ pekat 0,5-3 mL, lalu dikeringkan cawan berisi sampel di atas pemanas listrik dan dimasukkan kembali ke dalam tanur pada 450 °C sampai abu menjadi putih. Abu yang dihasilkan dilarutkan dalam 5 mL HCL 6 M dan ditambahkan 10 mL HNO₃ 0,1 M, disaring ke dalam labu ukur 50 mL, diencerkan dengan akuabides sampai tanda batas (V). Kadar logam diukur menggunakan SSA pada panjang gelombang 228,8 nm untuk Cd dan 283 untuk Pb.

$$\text{Kandungan logam (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V \quad (10)$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi µg/mL,

V adalah volume larutan akhir (mL)

W adalah berat sampel (g)



4.4.10 Analisis Logam Berat Cd dan Pb Menggunakan SSA-AA240

Kondisi instrument SSA-AA240 diatur untuk pengukuran Cd dan Pb seperti pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kondisi instrument SSA-AA240 untuk pengukuran Cd dan Pb dalam cokelat

Parameter	Cd	Pb
Sumber lampu	Katoda Cd	Katoda Pb
Panjang gelombang (nm)	228,8	283
Arus lampu (mA)	4	10
Lebar celah (nm)	0,5	0,5
Gas pembakar	Udara/asetilena	Udara/asetilena
Waktu tunggu pembacaan (detik)	3	3
Lama pengukuran (detik)	3	3
Sensitivitas instrumen	0,4 mg/kg \rightarrow 0,21A	0,8 mg/kg \rightarrow 0,23 A
Bahan kimia yang ditambahkan	-	0,1 mol/L Na ₂ EDTA

Apabila semua kondisi sudah tercapai dengan baik, filtrat hasil destruksi dianalisis pada panjang gelombang 228,8 nm untuk kadmium (Cd) dan 283 nm untuk timbal (Pb). Absorbansi yang dihasilkan dianalisis menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi Cd dan Pb ($y=ax+b$).

Selanjutnya dihitung konsentrasi akhir Cd dan Pb menggunakan rumus persamaan 11.

$$\text{Konsentrasi Cd/Pb (mg/kg)} = \frac{(C-B) \times fp \times v}{w} \quad (11)$$

Keterangan:

C = konsentrasi logam hasil dari kurva standar ($\mu\text{g/kg}$)

B = konsentrasi blangko hasil dari kurva standar ($\mu\text{g/kg}$)

Fp = faktor pengenceran

v = volume akhir larutan (L)

w = berat sampel (g)



4.5 Validasi Metode

4.5.1 Uji Linieritas

Uji ini dilakukan pada 2 jenis logam yaitu Cd dan Pb. Larutan standar Cd dibuat dengan konsentrasi 0,0; 0,02; 0,04; 0,1; 0,2; dan 0,4 mg/kg, kemudian dianalisis dengan SSA-AA240 pada panjang gelombang 228,8 nm (Tabel 4.1) sesuai urutan konsentrasi. Hasil absorbansi yang diperoleh dibuat suatu kurva standar hubungan antara konsentrasi versus absorbansi yang membentuk suatu garis lurus dan dilengkapi dengan persamaan regresi linier $y = ax + b$.

Larutan standar Pb dibuat dengan konsentrasi 0,0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; dan 1,4 mg/kg kemudian dianalisis dengan SSA-AA240 pada panjang gelombang 283 nm sesuai urutan konsentrasi. Hasil absorbansi yang diperoleh dibuat suatu kurva standar yaitu hubungan antara konsentrasi versus absorbansi yang membentuk suatu garis lurus dengan persamaan regresi linier $y = ax + b$.

Keterangan:

y = absorbansi

a = kemiringan kurva

x = konsentrasi

b = titik potong kurva

4.5.2 Uji Batas deteksi Instrument (IDL)

Uji ini dilakukan dengan cara menyiapkan 9 buah labu ukur volume 5 mL dan diisi dengan larutan blanko (HNO_3 0,5 mol/L), kemudian diukur serapannya menggunakan SSA-AA240 lalu dihitung absorbansi rata-rata dari masing-masing Cd dan Pb dan ditambah 3 kali standar deviasi (SD). Konsentrasi Cd dan Pb dihitung dengan persamaan regresi yang dihasilkan dari kurva standar. Hasil yang diperoleh merupakan nilai batas deteksi instrument (IDL).



4.5.3 Uji Batas deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) Metode

Siapkan 9 buah tabung polipropilena, masing-masing diisi dengan 5 mL asam nitrat (HNO_3) pekat 65 % dan destruksi menggunakan gelombang mikro selama 2 menit, diamkan di dalam gelombang mikro 5 menit dan dinginkan selama 5 menit dalam suhu ruang, kemudian absorbansi Cd dan Pb diukur pada panjang gelombang 228,8 nm dan 283 nm. Absorbansi rata-rata yang dihasilkan di tambah 3 kali standar deviasi (SD) untuk LOD dan 10 kali standar deviasi (SD) untuk LOQ. Konsentrasi Cd dan Pb dihitung menggunakan persamaan regresi yang dihasilkan dari kurva standar (poin 4.4.1). Hasil yang diperoleh merupakan batas deteksi (LOD) dan batas deteksi kuantitasi (LOQ) metode.

4.5.4 Uji Ketepatan (*accuracy*)

Siapkan 11 buah tabung polipropilena, masing-masing diisi sampel cokelat 0,2 g dan ditambahkan 5 mL HNO_3 pekat (65 %). Selanjutnya 5 tabung masing-masing ditambah larutan standar Cd konsentrasi 25 mg/kg sebanyak 0,25 mL (sehingga konsentrasi spike menjadi 1,19 mg/kg), sedangkan 5 tabung yang lain ditambahkan larutan standar Pb konsentrasi 30 mg/kg sebanyak 0,25 mL (sehingga konsentrasi spike menjadi 1,43 mg/kg), dan 1 tabung tidak ditambahkan larutan atandar. Semua sampel didestruksi menggunakan gelombang mikro selama 2 menit. Setelah itu didiamkan di dalam gelombang mikro 5 menit dan didinginkan selama 5 menit dalam suhu ruang, disaring menggunakan kertas whatman nomor 40. Filtrat yang dihasilkan dianalisis menggunakan SSA-AA240 pada panjang gelombang 228,8 nm untuk Cd, dan 283 untuk Pb. Hasil perolehan



kembali dinyatakan dengan persen *recovery* (Harmita, 2004). Persen perolehan kembali dapat dihitung menggunakan persamaan 12.

$$\text{Perolehan kembali (\%)} = \frac{[S+Std] - [Std]}{[\text{sampel tanpa Std}]} \times 100 \quad (12)$$

Keterangan:

[S+Std] = konsentrasi sampel yang ditambahkan standar

[Std] = konsentrasi standar yang ditambahkan

Catatan: konsentrasi standar yang ditambahkan tidak berbeda jauh dengan konsentrasi sampel yang diketahui

4.5.5 Uji Ketelitian (*Precision*)

Siapkan 10 tabung polipropilena, masing-masing diisi dengan asam nitrat (HNO_3) pekat 65% dan destruksi menggunakan gelombang mikro selama 2 menit, diamkan di dalam gelombang mikro 5 menit, dinginkan selama 5 menit dalam suhu ruang, kemudian diukur absorbansi Cd dan Pb pada panjang gelombang 228,8 nm dan 283 nm. Konsentrasi dihitung dengan persamaan yang dihasilkan dari kurva standar, sedangkan konsentrasi akhir dihitung dengan persamaan 11. Selanjutnya dihitung nilai standar deviasi relatif (RSD) menggunakan persamaan 13.

$$\text{RSD} = \bar{X}/SD \times 100, \% \quad (13)$$

Dimana:

\bar{X} = rata-rata konsentrasi

SD = standard deviasi

*Perlakuan ini diulang kembali pada 3 jam berikutnya (*intra day precision*)

4.5.6 Uji Kekuatan Metode (*Robustness*)

Disiapkan 10 tabung polipropilena, masing-masing diisi dengan asam nitrat (HNO_3) pekat 65% dan didestruksi menggunakan gelombang mikro selama 2 menit, didiamkan di dalam gelombang mikro 5 menit dan

didinginkan selama 5 menit dalam suhu ruang, kemudian diukur logam Cd dan Pb menggunakan SSA pada panjang gelombang 228,8 nm dan 283 nm dengan kondisi seperti pada **Tabel 4.1**. Dihitung konsentrasi Cd dan Pb dengan persamaan regresi kurva standar, dan dihitung nilai standar deviasi relatif (RSD). Perlakuan di atas diulang kembali dengan kondisi pengukuran berbeda seperti pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Perubahan kondisi pengukuran dengan SSA-AA240

Parameter	Cd	Pb
Lebar celah (nm)	0,2	0,2
Waktu pengukuran (d)	4	4
Waktu tunggu pembacaan (d)	4	4
Arus lampu (mA)	6	6

Selanjutnya dihitung konsentrasi Cd dan Pb dengan persamaan regresi kurva standar, dan dihitung nilai standar deviasi relatif (RSD) yang dihasilkan, lalu dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari kondisi pengukuran sebelumnya.

4.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari seluruh prosedur di atas belum dapat memberikan informasi secara komprehensif, sehingga perlu dianalisis lebih lanjut secara deskriptif kuantitatif berupa penjelasan yang dilengkapi dengan data objektif yang diperoleh dari hasil penelitian. Seluruh data absorbansi larutan standar yang dihasilkan diplotkan dengan konsentrasi sehingga membentuk grafik hubungan konsentrasi versus absorbansi dengan persamaan regresi linier $y = ax + b$. Hasil akhir konsentrasi, presisi, dan akurasi yang diperoleh dari metode yang



Repository Universitas Brawijaya

gelombang mikro yang dikembangkan dibandingkan dengan metode standar SNI 7934:2014 menggunakan uji statistika *independent t* dengan tingkat kepercayaan 95%.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian tentang pengembangan dan validasi metode khususnya dalam ilmu kimia analitik sangat penting dilakukan, hal ini untuk memastikan dan menjamin bahwa data yang dihasilkan dari suatu metode analisis dapat dipertanggung jawabkan keabsahannya. Disamping itu, validasi metode merupakan salah satu cara yang dilakukan di sebuah laboratorium untuk meningkatkan kepercayaan terhadap hasil suatu analisis yang dikeluarkan oleh laboratorium tertentu, apabila hasil analisis tidak dapat dipercaya maka tidak ada artinya dan sesungguhnya sama halnya dengan tidak dilakukan analisis.

Pengembangan metode dalam penelitian ini difokuskan pada proses preparasi sampel dengan destruksi basah sistem tertutup menggunakan gelombang mikro rumahan tanpa modifikasi selama 2 menit. Penggunaan waktu 2 menit ini didasarkan pada hasil percobaan penulis saat melakukan penelitian ini bahwa destruksi lebih dari 2 menit mengakibatkan pecahnya tabung polipropilena sehingga sampel mengalami tumpahan pada gelombang mikro. Untuk itu, demi keselamatan (*safety*) kerja laboratorium maka lama destruksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 menit. Sampel hasil destruksi langsung diukur menggunakan spektroskopi serapan atom pada panjang gelombang 228,8 nm untuk Cd dan 283 nm untuk Pb.

Hasil konsentrasi, ketelitian dan perolehan kembali logam Cd dan Pb dari destruksi gelombang mikro yang dikembangkan dibandingkan dengan metode destruksi kering (metode standar SNI 7934:2014) menggunakan uji t independen tingkat kepercayaan 95 % dengan software SPSS versi 18. Berkaitan dengan

pengembangan metode tersebut, maka perlu dilakukan proses validasi terhadap data yang dihasilkan, hal ini untuk mengkonfirmasi dan memastikan bahwa metode destruksi gelombang mikro yang dikembangkan telah memenuhi persyaratan dan cukup baik digunakan sebagai metode analisis rutin pada sampel nyata (*real samples*). Suatu metode dikatakan baik apabila memenuhi kriteria validasi antara lain akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi instrument (IDL) batas deteksi metode (LOD) batas kuantitasi, dan kekuatan metode (*robustness*). Semua kriteria validasi tersebut akan diuraikan secara detail dan komprehensif dengan sajian yang bersifat deskriptif kuantitatif di dalam pembahasan ini.

5.1 Analisis Kinerja (*performance*) SSA-AA240 Menggunakan Standar Cu

Pentingnya analisis kinerja SSA adalah untuk mengetahui apakah instrument dapat bekerja dengan baik atau tidak. Baik dan tidaknya kinerja instrument SSA-AA240 diketahui dari hasil uji sensitivitas terhadap larutan standar Cu, akurasi, presisi dan uji batas deteksi instrument (IDL).

Tabel 5.1 Hasil pengukuran standar Cu 3 mg/kg untuk analisis kinerja instrument SSA-AA240 (n = 10)

Sensitivitas	Perolehan kembali (%)	Standar deviasi relatif (%)	Batas deteksi instrument (mg/kg)
1,5 mg/kg 0,321 A	100,7	0,6	0.0005

Diukur pada panjang gelombang 324,8 nm, arus lampu: 4 mA, lebar celah: 0,5 nm

Berdasarkan **Tabel 5.1** diketahui bahwa instrument SSA-AA240 memiliki sensitivitas yang baik, hal ini dapat dilihat dari hasil pengukuran standar Cu 1,5 mg/kg yang memberikan nilai absorbansi 0,321, kriteria yang diterima minimal 0,2 (buku manual AA240, 1989). Apabila nilai absorbansi yang dihasilkan lebih kecil dari pada 0,2 maka instrument tidak sensitif, sehingga perlu di optimasi



ulang. Perolehan kembali mencapai 100,7 % sehingga instrument SSA-AA240 dikategorikan memiliki ketepatan atau akurasi yang cukup baik karena masih berada dalam rentang kriteria yang diterima yaitu 95-105 % (buku manual AA240, 1989). Adapun nilai standar deviasi relatif (RSD) sebesar 0,6 %, yang berarti bahwa instrument SSA-AA240 memiliki ketelitian yang baik.

5.2 Verifikasi Kinerja Instrumens SSA-AA240 Menggunakan Larutan Standar Cd dan Pb

Proses verifikasi standar Cd dan Pb dilakukan untuk memastikan akurasi dan presisi dari instrumen SSA cukup baik atau tidak. Hasil presisi ditunjukkan dengan nilai standar deviasi relatif (RSD) yaitu 1,5 % untuk Cd dan 1,9 %, sedangkan akurasi instrument untuk Cd dan Pb ditunjukkan dengan persen perolehan kembali yaitu masing-masing 104,3 % dan 98,4 %.

Tabel 5.2 Standar deviasi relatif dan perolehan kembali instrument SSA-AA240 (n=9)

Standar (mg/kg)	Terukur (mg/kg)	Standar deviasi relatif (%)	Perolehan kembali (%)
Cd 0,02	0,021	1,5	104,3
Pb 0,2	0,197	1,9	98,4

Kriteria perolehan kembali yang diterima 95-105 % (manual book AAS-AA240 varian)

Nilai perolehan kembali yang dihasilkan menunjukkan bahwa instrument SSA-AA240 memiliki akurasi yang cukup baik untuk analisis logam Cd dan Pb, karena memenuhi kriteria akurasi instrument sesuai yang dipersyaratkan yaitu 95-105 % (manual book AAS-AA240, 1989).

5.3 Destruksi Sampel dengan Metode Basah Sistem Gelombang Mikro dan Metode Kering sistem Pengabuan

5.3.1 Destruksi Basah Sistem Gelombang Mikro

Salah satu syarat analisis logam dengan spektroskopi serapan atom (SSA) ialah sampel harus berupa larutan, oleh karena itu sebelum logam Cd dan Pb dianalisis maka sampel cokelat dilakukan destruksi terlebih dahulu. Destruksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah destruksi basah sistem tertutup dengan pemanasan gelombang mikro. Asam yang digunakan berupa asam nitrat (HNO_3) pekat 65 %. Asam nitrat dengan konsentrasi tinggi ini digunakan agar logam-logam yang terikat dengan zat-zat organik dapat larut dengan baik sehingga senyawa-senyawa organik dalam sampel terdekomposisi secara sempurna, dan memutus ikatan organologam menjadi logam-logam anorganik.

Volume sedikit dari asam nitrat pekat yaitu 5 mL telah mampu secara efektif melarutkan hampir semua jenis logam khususnya Cd dan Pb dalam cokelat sehingga logam-logam tersebut berada dalam bentuk ionnya.

Berdasarkan hasil pengukuran dengan spektroskopi serapan atom diketahui bahwa cokelat a dan b mengandung logam berat Cd dan Pb seperti yang tercantum pada **Tabel 5.3**.

Tabel 5.3 Hasil pengukuran logam Cd dan Pb dalam cokelat (n = 5)

Logam	Cokelat	Konsentrasi (mg/kg)	SD
Cd	a	1,07	0,02
	b	1,10	0,05
Pb	a	1,46	0,02
	b	1,54	0,07

Tabel 5.3 menunjukkan bahwa cokelat a dan b mengandung logam Cd dan Pb cukup tinggi yaitu 1,0-1,5 mg/kg. Konsentrasi tersebut melebihi nilai ambang batas maksimum yang dipersyaratkan oleh standar nasional Indonesia (SNI 7934:2014) yaitu 0,5 mg/kg untuk Cd dan 1 mg/kg untuk Pb. Tingginya konsentrasi logam Cd dan Pb dalam cokelat dapat disebabkan beberapa faktor antara lain, asal tanaman cokelat yang digunakan (Suherni, 2010), komposisi bahan pangan yang ditambahkan, peralatan yang digunakan saat proses produksi, jumlah zat warna yang dicampurkan baik pada cokelat itu sendiri (Sudhir, dkk., 2005) maupun pada wadah atau pembungkus yang digunakan.

Dias dan Wickramasinghe (2016) melakukan penelitian pada 3 jenis wadah pembungkus cokelat yang digunakan oleh produsen cokelat di Sri Lanka.

Kesimpulan yang dilaporkan menunjukkan bahwa wadah cokelat A, B dan C mengandung logam berat Cr, Ni, Sb dan Pb dengan konsentrasi rata-rata masing-masing 111,4 mg/kg, 18,9 mg/kg, 3,4 mg/kg dan 3,7 mg/kg. Hasil ini menjadi informasi penting bahwa kadar logam berat yang terkandung di dalam wadah cokelat sangat berpotensi untuk diserap oleh cokelat sehingga meningkatkan kadar logam yang terdapat di dalamnya.

Adanya kadar logam berat Cd dan Pb dalam cokelat juga telah dilaporkan oleh Sudhir dkk., (2005), hasilnya menunjukkan bahwa dalam cokelat berbahan dasar kakao mengandung logam berat Cd sebesar 0,244 $\mu\text{g/g}$ dan Pb sebesar 1,915 $\mu\text{g/g}$. Gideon *et al* (2015) juga melaporkan hasil penelitian cokelat yang menunjukkan bahwa terdapat logam berat Cd sebesar 1,85 mg/kg. Dias dan Wickramasinghe, (2016) memperkuat adanya logam berat Pb dalam cokelat. Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat 3 dari 18 sampel cokelat yang

mengandung logam Pb yaitu rata-rata 0,2 mg/kg, konsentrasi tersebut melebihi ambang batas maksimum yang dipersyaratkan oleh *food and drug administration* (FDA) yaitu 0,1 mg/kg.

Khusus analisis logam Pb, sampel coklat ditambahkan larutan EDTA 0,1 mol/L sebanyak 2 mL, larutan ini berfungsi untuk mengikat logam Pb membentuk kelat, namun dapat lepas kembali pada saat atomisasi nyala asetilena dengan suhu kira-kira 2300-2500 °C. Disamping itu, adanya EDTA dapat mengurangi gangguan anion-anion lain seperti posfat, iodida, karbonat, florida dan asetat (manual book AAS-AA240, 1989). Anion-anion tersebut dapat mengganggu pada saat proses analisis dengan spektroskopi serapan atom (SSA), karena dapat menurunkan atau bahkan meningkatkan absorbansi dari Pb yang sebenarnya.

Destruksi basah sistem gelombang mikro memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan pemanasan konvensional, antara lain: waktu destruksi lebih cepat bahkan hanya dalam hitungan menit, hal ini sesuai dengan pernyataan Mitra (2003) bahwa frekuensi 2,45 GHz yang dipancarkan gelombang mikro hanya dapat diserap oleh sampel secara merata dan tidak diserap oleh wadah yang digunakan, dilakukan dalam kondisi tertutup sehingga dapat menghindari hilangnya sebagian analit (logam) akibat penguapan, penggunaan asam lebih sedikit, penggunaan sampel lebih sedikit. Keunggulan ini sesuai dengan hasil penelitian Patricia, *et al* (2015) yang menyimpulkan bahwa destruksi basah sistem gelombang mikro lebih efektif dan efisien dibandingkan destruksi kering, karena dilakukan dalam kondisi tertutup dengan waktu destruksi yang singkat, dan hasil yang akurat.

Beberapa penelitian analisis logam telah dilaporkan berhasil menggunakan destruksi basah sistem gelombang mikro dengan pereaksi asam nitrat tunggal maupun campuran antara lain: Dias dan Wickramasinghe (2016) analisis logam Cr, Ni, Cd, As, Sb dan Pb pada beberapa jenis coklat dan wadah coklat dengan kisaran perolehan kembali sebesar 91,15-93,8 %. Rehana *et al* (2009) telah berhasil melakukan analisis logam Cd, Pb, dan Zn pada bunga matahari dengan persentase perolehan kembali masing-masing sebesar 96,7 %, 96,9 % dan 96,8 %.

Akinyele dan Shukonbi (2015) juga telah melaporkan hasil analisis logam Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, dan Ni di dalam beberapa sampel makanan dengan persentase perolehan kembali masing-masing sebesar 97,8 %, 90,3 %, 90,4 %, 97,0 %, 84,3 %, 95,1 %, 91,3 % dan 97,2 %.

Reaksi logam Cd dan Pb dengan asam nitrat dapat dilihat pada Gambar 5.1,



Gambar 5.1 Reaksi logam Cd dan Pb dengan asam nitrat

Reaksi di atas terlihat dengan jelas bahwa apabila sampel yang mengandung organologam direaksikan dengan asam nitrat, maka dapat mengalami oksidasi dan membentuk gas NO. Zat-zat organik yang dianggap sebagai CH_2O mengalami proses dekomposisi dan membentuk CO_2 dan NO.

Adanya proses dekomposisi menunjukkan bahwa logam/analit sudah terlepas dari ikatan zat-zat organik, setelah itu dirubah menjadi bentuk garam logam- (NO_3) yang mudah larut dalam air (Wulandari, dkk., 2013).

5.3.2 Destruksi Kering Sistem Pengabuan

Proses destruksi kering merupakan metode standar SNI 7934:2014 untuk analisis logam Cd dan Pb dalam cokelat. Destruksi ini dilakukan sebagai pembandingan dari metode destruksi basah sistem gelombang mikro yang dikembangkan dengan tujuan mengetahui perbedaan konsentrasi, ketelitian dan perolehan kembali logam Cd dan Pb dalam cokelat. Metode analisis yang digunakan adalah uji t independen tingkat kepercayaan 95 % menggunakan software SPSS versi 18. Pemanasan konvensional

Tabel 5.4 Perbandingan hasil destruksi sistem gelombang mikro yang dikembangkan dengan destruksi kering (standar) (n = 5)

Logam	Metode	Konsentrasi ditambahkan (mg/kg)	Konsentrasi terukur (mg/kg)	Perolehan kembali (%)	Standar deviasi relatif (%)
Cd	1	0	1,05	94,3	2,5
	2	1,19	0,89		
Pb	1	0	1,77	86,5	2,9
		1,43	1,43		
	2	0	1,32	92,3	3,5
		1,3	2,43	94,	3,6

Sampel berupa cokelat a

1 destruksi basah sistem gelombang mikro

2 destruksi kering (metode standar SNI 7934:2014)

Berdasarkan hasil pengukuran diketahui bahwa metode destruksi kering menghasilkan konsentrasi, presisi dan perolehan kembali Cd dan Pb lebih kecil dibandingkan metode destruksi basah sistem gelombang mikro. Perolehan kembali Cd dan Pb menggunakan destruksi basah gelombang mikro masing-masing mencapai 94,3 % dan 92,3 %, sedangkan metode destruksi kering sebesar 86,5 % dan 85,6 %. Kondisi ini terjadi karena pada destruksi kering suhu yang

digunakan sangat tinggi yaitu 450 °C dan waktu destruksi cukup lama 4-5 jam, sehingga mengakibatkan hilangnya sebagian logam Cd dan Pb yang terikat dengan senyawa-senyawa organik yang disebabkan terjadinya penguapan selama proses destruksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sumardi (2002) bahwa destruksi kering dapat menghilangkan unsur-unsur mikro yang terdapat di dalam sampel.

Tabel 5.5 Perbandingan metode destruksi sistem gelombang mikro yang dikembangkan dengan destruksi kering (standar)

Parameter	Destruksi sistem gelombang mikro	Destruksi kering (metode standar)
Massa sampel	0,2 gram	10-20 gram
Pra destruksi	Tidak ada perlakuan	Dipanaskan dengan pemanas listrik
Jenis asam/pelarut yang digunakan	HNO ₃ pekat 65 % (14,4 mol/L)	HCl 6 mol/L dan HNO ₃ 0,1 mol/L dan akuades
Volume asam	5 mL	15 mL
Kondisi destruksi	Tertutup	Terbuka
Waktu destruksi	2 menit	4-5 jam
Sampel hilang karena penguapan	Tidak ada	ada
Kontaminasi sampel	Tidak ada	ada
Energi panas	Gelombang mikro	Konvensional
Efek panas	Tidak dapat diserap oleh wadah yang digunakan sehingga dapat diserap sampel secara merata	Dapat diserap oleh wadah yang digunakan akibat suhu tinggi dan waktu yang lama, tidak merata
Kehilangan analit	Terlindungi (tidak menguap)	Dapat menguap (sebagian hilang)
Daya (watt)	900	3000
Sistem operasi	Otomatis	Manual
Setelah destruksi	Langsung diukur dengan SSA	Diencerkan dengan 6 mol/L HCl:0,1 mol/L HNO ₃ :akuades

SSA : Spektroskopi serapan atom

Hasil analisis terhadap kedua metode destruksi diketahui bahwa proses destruksi merupakan salah satu hal yang sangat penting dalam preparasi sampel untuk analisis logam. Pemilihan metode destruksi didasarkan pada efektifitas dan efisiensi untuk penentuan beberapa jenis logam dalam beberapa jenis sampel.



Informasi yang terdapat pada **Tabel 5.5** terlihat bahwa destruksi basah sistem gelombang mikro yang dikembangkan lebih dapat diunggulkan dari pada destruksi kering, karena proses destruksi berlangsung secara efektif dan efisien serta kehilangan analit akibat penguapan dapat dihindari karena destruksi dilakukan dalam keadaan tertutup.

5.4 Uji t Independen Terhadap Kedua Metode Destruksi

Uji t independen dengan tingkat kepercayaan 95 % dilakukan untuk mengetahui apakah hasil dari kedua metode destruksi berbeda secara signifikan, dengan hipotesis nol (H_0): hasil konsentrasi dan perolehan kembali logam Cd dan Pb menggunakan destruksi basah sistem gelombang mikro tidak berbeda secara signifikan dengan destruksi kering, sedangkan hipotesis alternatif (H_a) hasil konsentrasi dan perolehan kembali logam Cd dan Pb menggunakan destruksi basah sistem gelombang mikro berbeda secara signifikan. Adapun pengambilan keputusannya adalah jika hasil signifikan t hitung lebih kecil dari pada t tabel maka H_0 diterima, begitu juga sebaliknya jika t hitung lebih besar dari pada t tabel maka H_0 ditolak. Berdasarkan hasil uji t independen menunjukkan bahwa signifikan t hitung lebih kecil dari pada tabel t baik dengan tingkat signifikansi 5 % (1,860) maupun 1 % (2,896), dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode destruksi basah sistem gelombang mikro dan destruksi kering (standar SNI7934:2014) tidak berbeda secara signifikan.

Berkaitan dengan hal tersebut, metode destruksi basah sistem gelombang mikro dapat dijadikan sebagai metode alternatif dalam melakukan preparasi analisis logam Cd dan Pb dalam cokelat, karena lebih efektif dan efisien

dibandingkan dengan metode destruksi kering. Namun demikian, metode destruksi basah sistem gelombang mikro perlu dilakukan validasi untuk membuktikan bahwa metode tersebut menghasilkan suatu data yang valid.

5.5 Validasi Metode

Proses validasi sangat penting dilakukan untuk mengkonfirmasi dan memastikan bahwa metode yang sedang dikembangkan layak digunakan sebagai metode analisis dengan dibuktikan data-data ilmiah yang objektif. Disamping itu, validasi ini dilakukan untuk meningkatkan kepercayaan terhadap data yang dihasilkan dari suatu metode analisis. Apabila data yang dihasilkan dari suatu metode tidak dapat dipercaya maka sesungguhnya tidak ada artinya dan sama halnya tidak dilakukan analisis. Begitu juga dalam penelitian ini perlu dilakukan validasi, karena metode analisis yang digunakan merupakan pengembangan dari metode standar sehingga perlu dibuktikan kevalidannya. Adapun parameter-parameter validasi yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu linieritas, IDL, LOD, LOQ, akurasi, presisi, dan *robustness*.

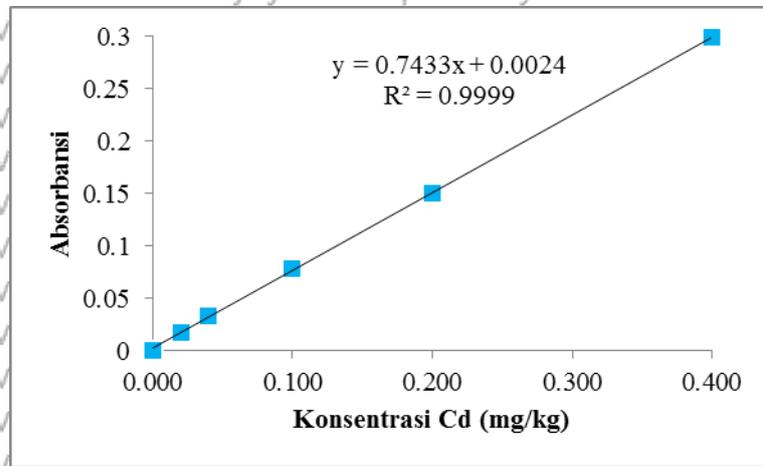
5.5.1 Linieritas

Parameter uji linieritas ini dilakukan guna mengetahui kemampuan suatu metode analisis untuk memberikan respon yang baik sehingga hasil pengukuran proporsional terhadap konsentrasi standar atau analit. Uji ini dilakukan dengan mengukur absorbansi dari larutan standar Cd yaitu 0,00; 0,02; 0,04; 0,10; 0,20; dan 0,40 mg/kg, sedangkan untuk Pb 0,00; 0,10; 0,20; 0,40; 0,8; 1,40. Kemudian hasil yang diperoleh diplotkan dengan konsentrasi Cd sehingga terbentuk sebuah

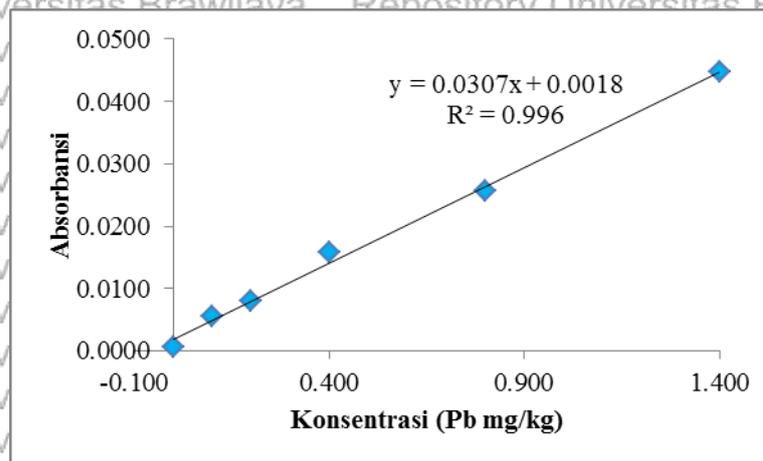


grafik yang menghubungkan antara konsentrasi lawan absorbanasi seperti pada

Gambar 5.2.



(a)



(b)

Gambar 5.2 Kurva kalibrasi Cd dan Pb

(a) Standar Cd yang diukur dengan SSA-AA240 pada panjang gelombang 228,8 nm, arus lampu katoda 4 mA, menggunakan pelarut HNO₃ 0,5 mol/L (b) standar Pb yang diukur pada panjang gelombang 382 nm, arus lampu katoda 10 mA, menggunakan pelarut HNO₃ 0,5 mol/L.

Kisaran konsentrasi logam Cd dan Pb untuk memperoleh linieritas yang baik adalah 0,02-3 µg/g untuk Cd pada panjang gelombang 228,8 nm, dan 0,5-50 µg/g untuk Pb pada panjang gelombang 283 nm (manual book AAS-AA240, 1989). Berdasarkan hasil pengukuran absorbanasi terhadap beberapa larutan



standar (**Gambar 5.2**) diperoleh suatu kurva yang menghubungkan antara konsentrasi versus absorbansi dengan persamaan garis lurus dan koefisien korelasi (r) yaitu $Y = 0,7433 Cd + 0,0024$, koefisien korelasi (r) = 0,9999 dan $Y = 0,0307 Pb + 0,0018$, koefisien korelasi (r) = 0,9960. Berdasarkan nilai koefisien korelasi (r) dari kedua kurva standar, dapat disimpulkan bahwa kedua kurva tersebut dikategorikan sebagai kurva yang linier, karena nilai r mendekati +1. Menurut Harmita (2004) linieritas yang ideal dapat diperoleh apabila nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 tergantung pada arah garis.

Berdasarkan persamaan yang dihasilkan, dapat disimpulkan bahwa kurva yang terbentuk baik untuk logam Cd maupun Pb telah memenuhi hukum Lambert beer yang menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi, artinya semakin besar konsentrasi, maka semakin besar pula absorbansi yang dihasilkan.

5.5.2 Batas Deteksi Instrument/*instrument detection limit* (IDL)

Tujuan utama dilakukannya penentuan batas deteksi instrument ialah untuk mengetahui batas terkecil analit yang dapat terdeteksi oleh instrument dan masih memberikan respon atau sinyal, nilai IDL selalu berada di bawah batas deteksi metode. Penentuan batas deteksi instrument dilakukan dengan menyiapkan 9 (sembilan) buah labu ukur yang diisi dengan larutan asam nitrat (HNO_3) 0,5 mol/L, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 228,8 nm untuk Cd dan 283 nm untuk Pb.



Tabel 5.6 Absorbansi blangko untuk menghitung IDL dalam penentuan logam Cd dan Pb (n=9)

Logam	Rata-rata absorbansi + 3 SD	Titik potong	Kemiringan	IDL (mg/kg)
Cd	0,0031	0,0024	0,7433	0,0009
Pb	0,0023	0,0018	0,0307	0,0160

Blangko berupa larutan HNO_3 0,5 mol/L yang dibuat dari HNO_3 pekat 65 % menggunakan pelarut akuabidestilata, IDL adalah batas deteksi instrumen

Apabila dilihat dari nilai IDL yang dihasilkan, ternyata blangko HNO_3 0,5 mol/L memberikan respon berbeda terhadap logam Cd dan Pb. Perolehan IDL dari masing-masing logam yaitu 0.0009 mg/kg untuk Cd dan 0.016 mg/kg untuk Pb, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa blangko yang digunakan juga mengandung logam Cd dan Pb meskipun dalam konsentrasi kecil.

5.5.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi Metode (LOD dan LOQ)

Penentuan batas deteksi metode bertujuan untuk mengetahui batas konsentrasi terkecil yang dapat terukur oleh instrument dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. LOD kurang lebih sama dengan MDL (*method detection limit*), sedangkan penentuan LOQ digunakan untuk mengetahui jumlah terkecil analit yang dapat terdeteksi secara kuantitatif (Harmita, 2004).

Penentuan batas deteksi metode dilakukan dengan cara mengukur asam nitrat pekat (HNO_3) 65 % yang digunakan sebagai pelarut sampel dengan 9 kali ulangan.

Tabel 5.7 Hasil pengukuran HNO_3 pekat 65 % untuk penentuan batas deteksi metode dan batas kuantitasi logam Cd dan pb dalam cokelat (n=9)

Logam	Rata-rata absorbansi	Standar deviasi	Batas deteksi (mg/kg)	Batas kuantitasi (mg/kg)
Cd	0,0009	0,002	0,006	0,025
Pb	0,0021	0,001	0,020	0,042

HNO_3 pekat 65 % yang dimicrowave (900 watt) selama 2 menit, diukur dengan SSA-AA240 varian pada panjang gelombang 228,8 nm untuk Cd dan 283 nm untuk Pb

Tabel 5.7 memberikan informasi bahwa batas deteksi metode (LOD) penentuan logam Cd dan Pb masing-masing sebesar 0,006 mg/kg dan 0,020 mg/kg, sedangkan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 0,025 mg/kg untuk Cd dan 0,042 mg/kg untuk Pb. Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa logam Cd dan Pb dapat terdeteksi apabila sampel yang diukur memiliki konsentrasi lebih besar dari nilai LOQ, sehingga hasilnya dapat dipercaya. Namun, apabila sampel yang terdeteksi lebih kecil dari nilai LOQ dapat dipastikan bahwa hasil tersebut bukanlah murni dari sampel melainkan *noise* atau gangguan saat analisi, dengan demikian data yang dihasilkan kurang akurat atau tidak dapat dipercaya.

Berkaitan dengan hal tersebut, salah satu cara yang perlu dilakukan untuk menentukan logam dalam konsentrasi rendah dapat menggunakan metode adisi standar. Adapun hasil perhitungan terhadap kadar logam dalam sampel coklat diketahui bahwa konsentrasi logam Cd dan Pb yang terdapat dalam coklat lebih besar dari nilai batas deteksi dan batas kuantitasi metode (**Tabel 5.2**), dengan demikian dapat dipastikan bahwa sinyal yang terukur benar-benar berasal dari sampel yang sedang dianalisis, dan bukan dari gangguan atau *noise*.

5.5.4 Akurasi

Uji parameter akurasi dilakukan untuk mengkonfirmasi adanya kehilangan analit berupa organologam yang disebabkan proses penguapan dan/atau kontaminasi pada tahap preparasi sampel serta gangguan matriks pada saat pengukuran dengan spektroskopi serapan atom. Penentuan akurasi dalam penelitian ini menggunakan *spiking method* yang didasarkan pada persen (%) perolehan kembali. Proses ini dilakukan dengan cara menambahkan larutan

standar (Cd dan Pb) yang sudah diketahui konsentrasinya. Konsentrasi standar yang ditambahkan hampir sama atau tidak berbeda jauh dengan konsentrasi sampel yang sebenarnya, hal ini dilakukan agar hasil pengukuran berbeda secara signifikan dengan sampel tanpa standar, sehingga mudah untuk memprediksi akurasi yang dihasilkan. Perlakuan ini sesuai dengan penjelasan di dalam AOAC (2002) bahwa konsentrasi analit (standar) yang ditambahkan harus identik atau relatif sama dengan sampel dan tidak boleh melebihi konsentrasi tertinggi dari kurva kalibrasi. Hasil uji akurasi dinyatakan dengan persentase perolehan kembali dengan kisaran yang dapat diterima adalah sebesar 80-110 % untuk konsentrasi \pm 1 mg/kg (AOAC, 2002).

Tabel 5.8 Hasil perolehan kembali logam Cd dan Pb dalam cokelat (n=5)

Cokelat	Logam	Konsentrasi standar yang ditambahkan (mg/kg)	Terukur (mg/kg)	Perolehan kembali (%)
A	Cd	0	1,05	-
		1,19 ^a	2,18	94,3
	Pb	0	1,43	-
		1,43 ^b	2,75	92,3
B	Cd	0	1,10	-
		1,19	2,33	103,6
	Pb	0	1,60	-
		1,43	2,94	94,4

^a diperoleh dari 0,25 mL standar Cd 25 mg/kg dimasukkan ke dalam sampel yang volumenya 5 mL, total volume 5,25 mL.

^b diperoleh dari 0,25 mL standar Pb 30 mg/kg dimasukkan ke dalam sampel yang volumenya 5 mL, total volume 5,25 mL.

Kriteria perolehan kembali yang dapat diterima 80-110 %

Hasil pengujian akurasi di atas menunjukkan bahwa perolehan kembali logam Cd dalam cokelat 1 dan 2 masing-masing sebesar 94,3 % dan 103,6 %, sedangkan logam Pb sebesar 92,3 % dan 94,4 %. Nilai perolehan kembali yang dihasilkan dalam penelitian ini telah memenuhi kriteria yang dipersyaratkan

dalam validasi metode. Menurut AOAC (2002) kriteria akurasi metode yang diterima adalah menghasilkan kisaran persentase perolehan kembali 80-110 %.

Perolehan kembali yang tinggi dikarenakan selama proses destruksi tidak terjadi penguapan yang mengakibatkan hilangnya sebagian logam berat, artinya logam-logam yang terdapat dalam sampel terjaga dengan baik.

Perolehan kembali yang dihasilkan pada penelitian ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Dias dan Wickramasinghe (2016) tentang logam berat dalam cokelat di Sri Lanka, hasilnya menunjukkan bahwa perolehan kembali logam Cd dan Pb masing-masing sebesar 93,8 % dan 93,4 %. Adanya data pendukung ini memperkuat kesimpulan bahwa metode destruksi basah sistem tertutup menggunakan gelombang mikro memang cukup baik untuk diaplikasikan pada sampel nyata.

Tabel 5.9 Perbandingan metode destruksi gelombang mikro yang dikembangkan dengan destruksi gelombang mikro yang lain

Sampel	Jenis logam	Perolehan kembali (%)	Referensi
Beberapa jenis cokelat dan wadah cokelat ¹	Cr, Ni, Cd, As, Sb, dan Pb	91,15-93,8 %	Dias dan Wickramasinghe (2016)
Beberapa jenis makanan	Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, dan Ni	84,3-97,8 %	Akinyele dan Shukonbi (2015)
Bunga matahari	Cd, Pb, Zn	96,7-96,9 %	Rehana <i>et al</i> (2009)
Cokelat a dan b ²	Cd dan Pb	92,3-103,6 %	Taufiq, (2016) (penelitian ini)

¹ Jumlah sampel 0,25 gram, waktu destruksi 15 menit, gelombang mikro START D-MILISTONE

² Sampel 0,2 gram, destruksi 2 menit, gelombang mikro rumahan (MODENA 2502)

Berdasarkan **Tabel 5.9** terlihat bahwa perolehan kembali yang dihasilkan dari keempat penelitian memenuhi kriteria yang dipersyaratkan yaitu 80-110 %.



Hal ini menunjukkan bahwa destruksi basah sistem gelombang mikro memiliki ketepatan (akurasi) yang cukup baik untuk preparasi beberapa jenis logam dalam beberapa jenis sampel. Namun, pada penelitian ini proses destruksi dilakukan dalam waktu 2 menit dan perolehan kembali mencapai 92,3-103,6 % sehingga metode destruksi gelombang mikro yang diusulkan dapat dikategorikan lebih efisien. Hasil akurasi metode yang baik sangat diperlukan dalam penelitian ini sebagai bukti bahwa metode yang sedang dikembangkan memenuhi persyaratan validasi, hal ini sangat tergantung pada seluruh tahapan dalam metode analisis.

Oleh karena itu, untuk memperoleh akurasi yang tinggi sangat diperlukan kondisi laboratorium yang baik, ketelitian dalam preparasi sampel, pereaksi dan pelarut yang baik, taat asas sesuai dengan prosedur, dan alat ukur yang terkalibrasi.

5.5.5 Presisi

Uji parameter presisi metode dilakukan dengan mengukur sampel yang sama dengan metode sama, analisis sama, instrument yang sama, kondisi laboratorium sama serta dianalisis pada hari yang sama dengan interval waktu relatif singkat, proses ini disebut dengan *repeatability (intra-day)*. Disamping itu, presisi metode dalam penelitian ini juga dilakukan dengan *intermediate precision (inter-day)*. Proses ini dilakukan pada sampel sama, menggunakan metode sama, analisis sama serta instrument yang sama, namun dilakukan pada hari yang berbeda, kemudian dihitung nilai standar deviasi relatif (RSD) yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil uji presisi (**Tabel 5.9 dan 5.10**) diketahui bahwa metode analisis logam Cd dan Pb dalam cokelat menggunakan SSA baik pada hari yang sama maupun hari berbeda menghasilkan presisi cukup baik, dengan kata lain

metode analisis yang sedang dikembangkan memiliki keterulangan yang cukup baik. Hal ini dapat dibuktikan dari hasil perolehan nilai standar deviasi relatif (RSD) yang kecil yaitu kisaran 1,6-4,8 %.

Tabel 5.10 Hasil uji presisi metode untuk Cd dan Pb pada hari yang sama (*intra-day*) (n = 5)

Cokelat	Logam	Konsentrasi (mg/kg)	Standar deviasi relatif (%)	3 jam kemudian	
				Konsentrasi (mg/kg)	Standar deviasi relatif (%)
A	Cd	1,07	1,9	1,07	2,7
	Pb	1,48	3,6	1,43	4,7
B	Cd	1,10	1,6	1,11	1,9
	Pb	1,54	2,0	1,66	4,3

Tabel 5.11 Hasil uji presisi metode untuk Cd dan Pb pada hari berbeda (*inter-day*) (n = 5)

Cokelat	Logam	Hari	Konsentrasi (mg/kg)	Standar deviasi relatif (%)
A	Cd	1	1,07	2,7
		2	1,08	1,6
	Pb	1	1,43	4,7
		2	1,48	4,8
B	Cd	1	1,11	1,9
		2	1,13	2,4
	Pb	1	1,66	4,3
		2	1,68	4,5

Hasil standar deviasi relatif (RSD) yang diperoleh dalam penelitian ini lebih kecil dari batas maksimal yang dipersyaratkan oleh SNI 7934:2014 (metode destruksi kering) yaitu 16 % untuk dua kali ulangan. Menurut Sumardi (2002), jika komponen yang dianalisis tergolong *trace analysis* kisaran toleransi ketelitian yang diterima adalah 0 ± 20 %. Apabila hasil yang diperoleh kurang dari kisaran tersebut, maka metode analisis dianggap memiliki keterulangan yang kurang baik.

5.5.6 Kekuatan Metode (*Robustness*)

Penentuan uji *robustness* merupakan salah satu parameter validasi metode yang harus dilakukan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kemiripan hasil pengukuran yang dilakukan dalam beberapa kondisi instrument yang berbeda (terdapat parameter kondisi instrument yang dirubah). Apabila hasil perubahan kondisi instrument menghasilkan suatu data yang memiliki kemiripan dengan kondisi standar, maka sesungguhnya metode tersebut dikategorikan *robust* (metode yang kuat). Adapun beberapa perubahan kondisi pengukuran instrument SSA-AA240 yang dilakukan dalam penelitian ini adalah lebar celah, waktu pengukuran, waktu tunggu pembacaan dan arus lampu katoda.

Tabel 5.12 *Robustness* (kekuatan metode) pengukuran logam Cd dan Pb dalam cokelat (n = 5)

Cokelat	Konsentrasi Cd (mg/kg)		Konsentrasi Pb (mg/kg)	
	a	b	a*	b
A	1,00	1,02	1,56	1,51
B	1,04	1,06	1,61	1,60
Standar deviasi relatif (%) [*]	2,6	2,8	4,0	4,7

^a lebar celah = 0,5 nm, waktu pengukuran = 3 detik, waktu tunggu pembacaan = 3 detik, arus lampu = 4 mA

^b lebar celah = 0,2 nm, waktu pengukuran = 4 detik, waktu tunggu pembacaan = 4 detik, arus lampu = 6 mA

^{*} lebar celah = 0,5 nm, waktu pengukuran = 3 detik, waktu tunggu pembacaan = 3 detik, arus lampu = 10 mA

standar deviasi relatif dihasilkan dari rata-rata dua jenis sampel cokelat

Berdasarkan hasil pengukuran (**Tabel 5.12**) diketahui bahwa adanya perubahan kondisi pengukuran memberikan hasil yang mirip atau tidak berbeda secara signifikan antara kondisi a dan b. Rata-rata kadar Cd (sampel 1) pada kondisi a sebesar 1,00 mg/kg, sedangkan kondisi b memberikan hasil sebesar 1,02 mg/kg. Kadar Pb rata-rata (sampel 1) pada kondisi a sebesar 1,56 mg/kg sedangkan kondisi b sebesar 1,51. Rata-rata nilai RSD logam Cd dari kedua



kondisi a dan b baik sampel 1 maupun 2 hampir sama masing-masing sebesar 2,6 % dan 2,8 %, sedangkan nilai RSD logam Pb pada kondisi a dan b masing-masing sebesar 4,0 % dan 4,7 %.

Adanya kemiripan hasil pengukuran dengan beberapa kondisi berbeda menunjukkan bahwa metode destruksi menggunakan gelombang mikro untuk penentuan logam Cd dan Pb dengan SSA-AA240 memiliki presisi cukup baik dengan nilai RSD ≤ 5 %, dengan demikian metode destruksi basah sistem gelombang mikro telah memenuhi kriteria validasi karena telah berhasil digunakan pada berbagai kondisi berbeda dengan hasil yang hampir sama.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Metode destruksi basah sistem gelombang mikro yang dikembangkan telah memenuhi persyaratan validasi seperti linieritas lebih besar dari 0,99, kisaran perolehan kembali 92,3-103,6 %, standar deviasi relatif (RSD) lebih kecil dari 5 %, konsentrasi Cd dan Pb lebih besar dari batas deteksi metode (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ), memiliki kekuatan metode (*robustness*) cukup baik untuk penentuan Cd dan Pb dalam cokelat.
2. Hasil uji *t* independen dengan tingkat kepercayaan 95 % menunjukkan bahwa ketelitian dan perolehan kembali logam Cd dan Pb menggunakan metode destruksi basah sistem gelombang mikro dan metode destruksi kering (standar SNI 7934:2014) tidak berbeda secara signifikan.
3. Prosedur destruksi gelombang mikro merupakan metode yang sangat praktis, mudah, cepat, akurat, teliti dan dapat diandalkan untuk preparasi penentuan logam Cd dan Pb dalam produk cokelat serta dapat digunakan sebagai metode analisis rutin di laboratorium untuk beberapa jenis sampel dengan jumlah yang banyak.

6.2 Saran

Perlu dilakukan juga validasi pada penentuan logam yang berbeda seperti Arsen (As) dan merkuri (Hg) menggunakan metode yang sama dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abarca, A., E.Canfranc, I. Sierra and M.L.Marina, 2001, **A Validated Flame AAS Method for Determining Magnesium in a Multivitamin Pharmaceutical Preparation**, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 25 (2001) 941-945.

Akinyele, I.O. and O.S.Shokunbi, 2015, **Comparative Analysis of Dry Ashing And Wet Digestion Methods For The Determination of Trace And Heavy Metals In Food Samples**, Food Chemistry 173 (2015) 682-684.

AOAC., 2002, **Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals**.

AOAC. 1993. **Peer Verified Methods Program, Manual on policies and procedures**, Arlington, 5 (1) 3-4.

Badan Standarisasi Nasional (BSN), **Standar Nasional Indonesia (SNI) nomor SNI 7934:2014, ICS 67.190**, Jakarta.

Basset, J., R.C., Denney, G.H., Jeffery dan J. Mendham, 1994, **Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik**. Edisi Keempat, diterjemahkan oleh Hadyana Pudjaatmaka, Jakarta, EGC.

Charlena, 2004, **Pencemaran logam berat timbal (Pb) dan Cadmium (Cd) pada sayur sayuran**, Falsafah sains Institute Pertanian Bogor Jawa Barat, Thesis, 30th April 2004.

Chen, W.C., K.H. Lu, S.H. Lin, L.Y. Liao, L.Y. Sheen, 2015, **Method Development and Validation For the High-Performance Liquid Chromatography Assay of Gastrodin in Water Extracts From Different Sources of *Gastrodia elata* Blume**, Journal Food and Drug Analysis 23 (2015): 803-810.

Christiane, D., N. Miekeleye, C.L.P. da Silveria, R.Q. Aucelio, R.C. Campos, P. Grinberg, G.P. Brandao, 2007, **The Determination of Trace Elements In Crude Oil And Its Heavy Fractions By Atomic Spectrometry**, Spectrochimica Acta Part B 62 (2007), 939-951.

Costa L.M., S.T. Gouveia, A.R.A. Nogueira, J.A. Nobrega, 2001, **Focused Microwave-assisted Acid Digestion of Oils: an Evaluation of the Residual Carbon Conten**, Analytical note, Spectrochimica Acta Part B 56, 1981-1985.

Darmono, 1995, **Logam dalam Sistem Biologi Mahluk Hidup**, UI Press, Jakarta.



Dias A.R.M. dan I. Wickramasinghe, 2016, **Determination of Toxic Metals in Chocolate Confectionery Wrappers Used by the Chocolate Manufacturers in Sri Lanka, and It's Migration to Chocolates Under Different Storage Conditions**, International Journal of Science and Research (IJSR), ISSN (Online): 2319-7064, Volume 5 Issue 1, 352-357.

Fini A., dan A. Breccia, 1999, **Chemistry by Microwaves**, Pure Appl. Chem., Vol. 71, No. 4, pp. 573-579.

Gideon, R., I.C.Yenet, I. Bekele, F. Bekele, L. Wilson, B. Sukha and K. Maharaj, 2015, **Cost-Effective Method of Analysis For The Determination of Cadmium, Copper, Nickel and Zinc in Cocoa Beans and Chocolates**, Journal of Food Research; Vol. 4, No. 1; 2015, 193-199. Published by Canadian Center of Science and Education.

Heriyanto, N.M., 2011, **Content of Heavy Metals in Vegetation, Soil, Water, Fish and Shrimp in Mangrove Fores**, Jurnal Penelitian Hutan Tanaman Vol.8 No. 4, Oktober, 2011, 197-205.

Hanjani, F.N., 2013, **Validasi Metode Analisis Unsur Logam Pb, Cu, Dan Zn Produk Saus Tomat Y Dari Pasar Tradisional X Daerah Surabaya Timur Dengan ICPS**, Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya, Vol.2 NO. 2 (2013).

Harmita, 2004, **Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya**, Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. I, No.3, ISSN: 1693-9883, Desember 2004, 117-135, Departemen Farmasi, FMIPA UI.

Herber, R.F.M and M. Stoeppler, 1994, **Trace Element Analysis in Biological Specimens**, ELSEVIER Amsterdam London-New York-Tokyo.

Indarti, E., N. Arpi, dan S., Budijanto, 2013, **Study of Chocolate Bar Making By Tempering And Untempering Methods**, Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia Vol. (5) No.1, 2013, Institut Pertanian Bogor (IPB) Bekerjasama Dengan Universitas Syiah Kuala Darussalam.

Istarani, Festri dan Ellina S.P., 2014, **Studi Dampak Arsen (As) dan Kadmium (Cd) Terhadap Penurunan Kualitas Lingkungan**. Jurnal Teknik Pomits (3):53-58.

Kolita Kamal Jinadasa, B.K., 2010, **Preparation of A Standard Operation Procedure For Validation of Laboratory Methods For Trace Metal Analysis In Seafood For National Aquatic Resources Research And Development Agency (Nara), Sri Lanka**, Post-Harvest Technology Division United Nations University, Srilanka.

Buku Manual dan *Cook Book* AA240, 1989, **Analytical Methods, Varian of Flame Atomic Absorption Spectrometry**, Varian Australia Pty Ltd A.CN.004 559 540, Mulgrave Victoria, Australia.

Manual Book For AAS, 1996, **Analytical Methods For Atomic Absorption Spectroscopy**, The PerkinElmer Inc., All rights reserved, Printed in the United States of America.

Merck Index, 2010, **Chemicals & Reagents**, Merck KGaA, Darmstadt.

Miller, J. C. dan J. N. Miller, 1991, **Statistika untuk Kimia Analitik Edisi Kedua**. Translated by Drs. Suroso, M.Sc. Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Mitra S., 2003, **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**, A JOHN WILEY & Sons, Inc., Publication.

Murniasih, S., dan A. Taftazani, 2013, **Evaluasi Hg, Cd, Co, Cr, Dan As Dalam Sampel Produk Agroindustri Berdasarkan Keputusan BPOM Dan ADI (Accept Daily Intake)**, J.Iptek Nuklir Ganendra, ISSN 1410-6987, Vol.16 No. 1, Januari 2013; 26-37.

NHMRC (*National Health & Medical Research Council*) 2009, **Blood Lead Levels: Lead Exposure and Health Effects in Australia**, National Health & Medical Research Council, August 2009.

Padnaik P., 2004, **Dean's Analytical Chemistry Hand Book, Second Edition**, The McGraw-Hill Companies, Inc., Publication.

Patricia, G., R.E. Sturgeon, L.D.O. Diehl, C.a. Bizzi, E.M.M. Flores., 2015, **Comparison of Sample Digestion Techniques For The Determination of Trace And Residual Catalyst metal Content In Single-Wall Carbon Nanotubes By Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**, Spectrochimica Acta Part B 105 (2015): 89-94.

Ravichandran, V., S. Shalini, K.M., Sundram and H. Rajak, 2010, **Validation of Analytical Methods-Strategies & Importance**, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 2, Suppl 3, ISSN- 0975-1491, Bilaspur-495009, India.

Rehana, A., T. G., Kazi, M. K., Jamali, M. B., Arain, M. D., Wagan, Nusrat, Jalbani, H. I., Afridi, A. Q., Shah, 2009, **Variation in Accumulation of Heavy Metals in Different Verities of Sunflower Seed Oil with the Aid of Multivariate Technique**, Food Chemistry 115 (2009) 318-323.

Sadia, A., F.H. Watto, M. Ahmed, M.H.S. Watto, S.A. Tirmizi and A. Wadood, 2015, **A Method Optimization Study For Atomic Absorption**



Spectrophotometric Determination of Total Zinc In Insulin Using Direct Aspiration Technique, Alexandria Journal of Medicine, 51, 19-23.

Saeni, 1997, **Penentuan Tingkat Pencemaran Logam Berat Dengan Analisis Rambut**, Orasi ilmiah, Fakultas MIPA, IPB, Bogor.

Setiawan, H., 2013, **Akumulasi dan Distribusi Logam Berat pada Vegetasi Mangrove di Perairan Pesisir Sulawesi Selatan**, Jurnal Ilmu Kehutanan, Vol VII No. I, 12-24.

Standar Internasional ISO/IEC 17025:2005 (Versi Bahasa Indonesia), 2005, **Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi**, Edisi Kedua, Diterjemahkan Oleh Komite Akreditasi Nasional (KAN)

Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, 2003, **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian**, Penerbit Liberty Yogyakarta Bekerjasama dengan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, UGM.

Sudhir, D., R.Karpe, A.G. Hegde, R.M. Sharma, 2005, **Lead, Cadmium and Nickel in Chocolates and Candies from Suburban Areas of Mumbai, India**, Journal of Food Composition and Analysis, Volume 18, Issue 6, September 2005, Pages 517-522.

Suherni, 2010, **Keracunan Timbal di Indonesia, The Global Lead Advice and Support Service (GLASS)**, Macquarie University, Sydney, Australia. Dapat diakses di www.lead.org.au/.

Sumardi, 1981, **Metode Destruksi Contoh Secara Kering Dalam Analisa Unsur-Unsur Fe, Cu, Mn dan Zn dalam Contoh-Contoh Biologis**, Prosiding Seminar Nasional Metode Analisis. Lembaga Kimia Nasional, LIPI, Jakarta.

Sumardi, 2002, **Validasi Metode Pengujian**, Pusat Standardisasi dan Akreditasi Sekretariat Jendral Depertemen Pertanian, Jakarta.

Supriyanto, C., Samin dan Purwanto, 2006, **Estimasi Ketidakpastian Pengukuran Logam Berat Cd, Cr, Cu, Pb dan Zn Dalam Contoh Uji Limbah Padat Secara FAAS**, Prosiding dengan ISSN 0216 – 3128, PPI-PDIPTN, Yogyakarta, 10 Juli 2006.

Supriyanto, C., Samin, dan Purwanto 2007, **Validasi Pengujian Cr, Cu dan Pb dengan Metode Spektrometri Serapan Atom**, Prosiding dengan ISSN 0216-3128, PPI - PDIPTN 2006 Pustek Akselerator dan Proses Bahan-BATAN, Yogyakarta, 10 Juli 2007.

Wegscheider, 1996, **Validation of Analytical Methods, in Accreditation and Quality Assurance in Analytical Chemistry**, Springer Verlag, Berlin.



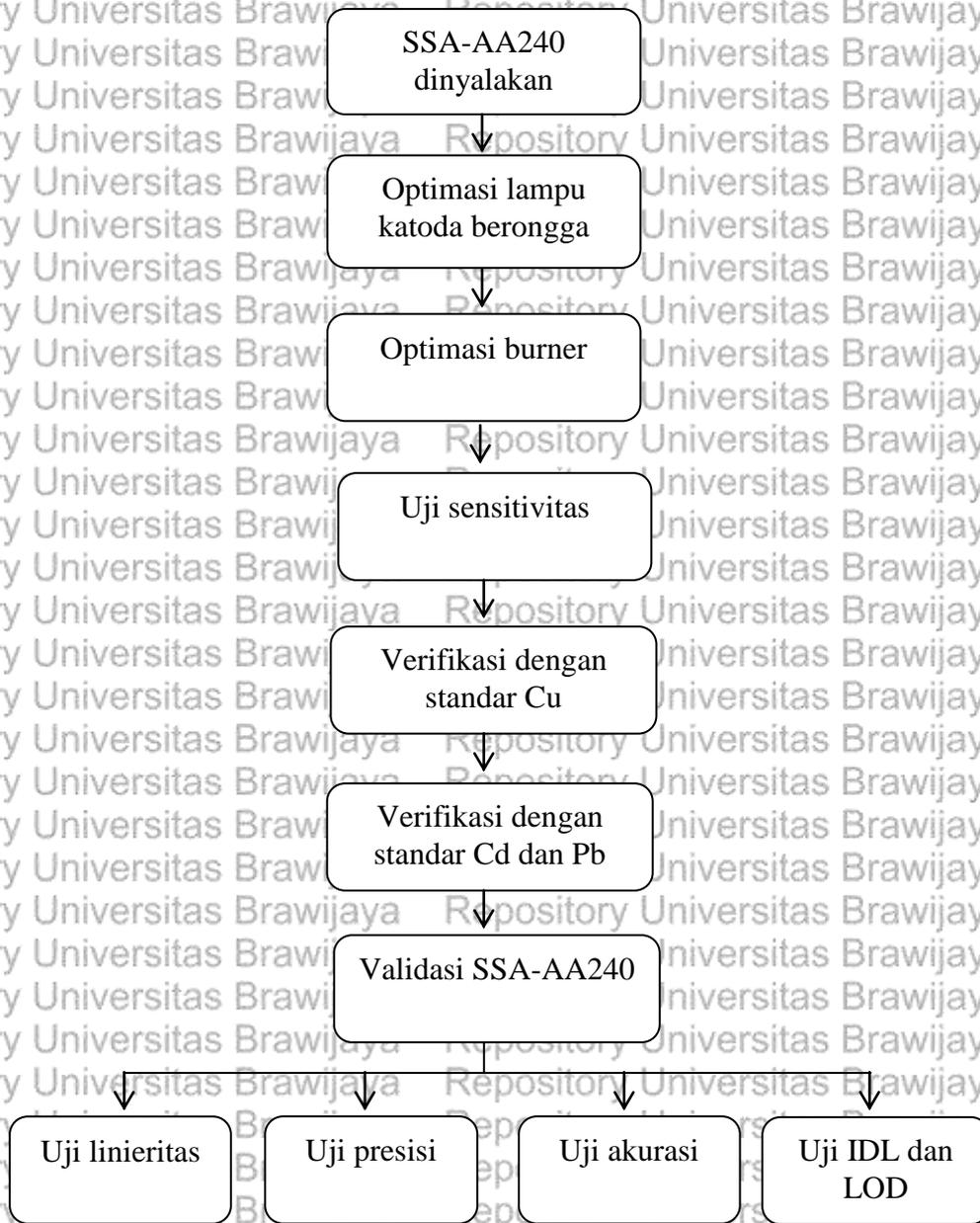


Wulandari, E., Amelia dan Sukaesih, 2013, **Preparasi Penentuan Kadar Logam Pb, Cd, dan Cu dalam Nugget Ayam Rumput Laut merah (*Eucheuma Cattoni*)**. Jurnal Sains dan Seni.

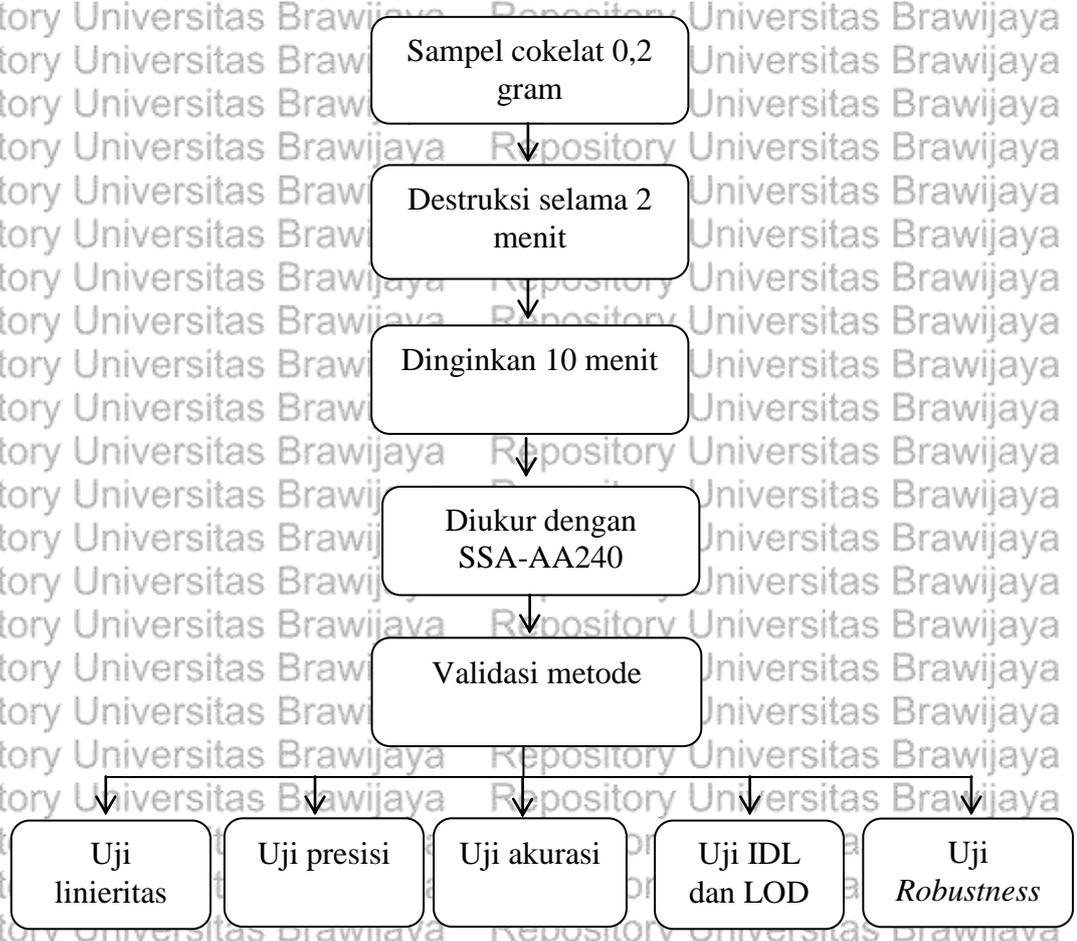
Zhong, W.S., T. Ren, dan L.J. Zao, 2016, **Determination of Pb(lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese Tea with High Resolution Continuum Source Graphit Furnace Atomic Absorption Spectrometry**, Journal of Food and Drug Analysis, XXX, 1-10.

LAMPIRAN 1. Uji *performance* dan validasi metode

1. Uji *performance* dan validasi spektroskopi serapan atom (SSA)



2. Prosedur validasi metode destruksi gelombang mikro



**LAMPIRAN 2. Perhitungan dan pembuatan larutan****1. Perhitungan pembuatan asam nitrat 0,5 mol/L**

$$\begin{aligned} \text{Densitas } (\rho) &= m/v \\ &= 1,39 \text{ kg/L} \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = 65 \%$$

$$\text{Massa sebenarnya (kg)} = \frac{65}{100} \times 1,39 \text{ kg/L} \times 1000 \text{ (konversi ke gram)}$$

$$= 903,5 \text{ g}$$

$$\text{Mol} = g/Mr$$

$$= 903,5 \text{ g}/63 \text{ g/mol}$$

$$= 14,3$$

Molaritas dari bahan induk dapat juga menggunakan rumus 1.

$$\text{Molaritas (M)} = 10 \times 1,39 \times 65/Mr \quad (1)$$

2. Perhitungan pembuatan larutan standar Cu 10 mg/Kg dari 1000 mg/Kg

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 100 \times 10$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Jadi, pipet 1 mL standar Cu 1000 mg/Kg, masukkan dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan HNO₃ 0,5 mol/L sampai tanda batas.

3. Perhitungan pembuatan larutan standar Cu 1, 2, 3, 4 dan 5 mg/Kg dari 10 mg/kg

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 = 20 \times 1$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

4. Perhitungan pembuatan larutan standar Cd 0,02; 0,04; 0,1; 0,2; dan 0,4 mg/kg

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 = 50 \times 0,02$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, pipet 0,1 mL standar Cd 10 mg/Kg, masukkan dalam labu ukur 50 mL.

Jadi, pipet 0,1 mL standar Cd 10 mg/Kg, masukkan dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan HNO₃ 0,5 mol/L sampai tanda batas.

ulangi dengan volume 0,2 0,5, 1,0 dan 2,0 mL, masing-masing masukkan dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan HNO₃ 0,5 mol/L sampai tanda batas

5. Perhitungan pembuatan larutan standar Pb 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 dan 1,4 mg/kg

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 10 = 50 \times 0,1$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, pipet 0,5 mL standar Pb 10 mg/Kg, masukkan dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan HNO₃ 0,5 mol/L sampai tanda batas.

ulangi dengan volume 1, 2, 4 dan 7 mL, masing-masing masukkan dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan HNO₃ 0,5 mol/L sampai tanda batas

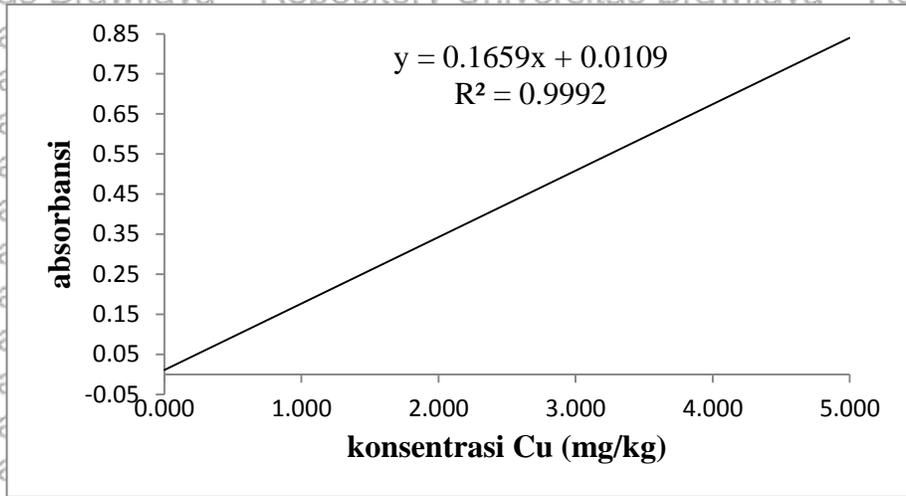




Lampiran 3. Analisis Kinerja Instrumen SSA-AA240 menggunakan standar Cu

1 kalibrasi standar

kons	Abs
0.000	-0.0008
1.000	0.1812
2.000	0.3557
3.000	0.5078
4.000	0.6777
5.000	0.8321



2 uji ensitivitas

konsentrasi (mg/kg)	Abs	ekspektasi absorbansi
1,5	0,321	>0,2

3 verifikasi data kalibrasi/akurasi

standar (mg/kg)	terukur (mg/kg)	akurasi (%)	rata-rata (mg/kg)	SD	RSD (%)
3	2.997	99.9	3.021	0.018	0.6
3	2.998	99.9			
3	3.031	101.0			
3	3.043	101.4			
3	3.017	100.6			
3	3.043	101.4			
3	3.023	100.8			
3	3.035	101.2			
3	3.000	100.0			
3	3.024	100.8			

4 batas deteksi instrumen (IDL)

sampel	konsentrasi (mg/kg) rata-rata	SD	IDL = 3SD
Blank	-0.0004	-0.00047	0.0002
Blank	-0.0008		0.0005
Blank	-0.0006		
Blank	-0.0002		
Blank	-0.0004		
Blank	-0.0004		
Blank	-0.0003		
Blank	-0.0004		
Blank	-0.0007		
Blank	-0.0005		

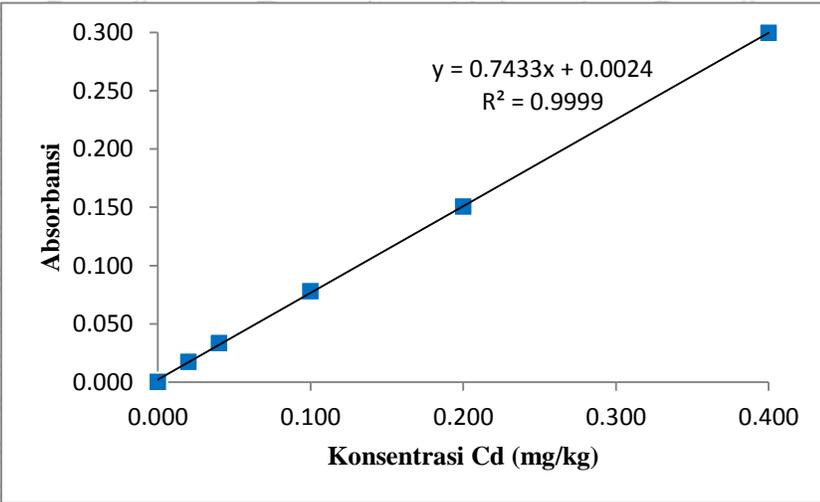


Lampiran 4. Analisis logam Cd dalam coklat

4 maret 2016

1. Penentuan linearitas

conc	abs
0.000	0.0002
0.020	0.0174
0.040	0.0336
0.100	0.0780
0.200	0.1504
0.400	0.2995



2. Penentuan batas deteksi instrumen (IDL), asam nitrat 0,5 M tanpa dimicrowave

Blanko	Absorbansi	rata-rata +3SD	intersep	slope	[Cd] (mg/kg)
1	0.0006	0.0031	0.0024	0.7433	0.0009
2	-0.0009				
3	0.0002				
4	0.0001				
5	0.0002				
6	-0.0006				
7	-0.0001				
8	0.0003				
9	0.0009				
rata-rata =		0.0001			
SD =		0.001			

3. Penentuan LOD dan LOQ menggunakan HNO3 pekat dan dimicrowave selama 2 menit (sama dengan sampel)

Blanko	Absorbansi	rata-rata +3SD	intersep	slope	LOD Cd (mg/kg)
1	-0.0018	0.0069	0.0024	0.7433	0.006
2	-0.0017				
3	0.0024	LOQ			
4	0.0031	rata-rata +10 SD			
5	-0.0018	0.0209	0.0024	0.7433	0.025
6	0.0023				
7	0.0014				
8	0.0025				
9	0.0014				
rata-rata =		0.0009			
SD =		0.002			

4. Penentuan akurasi instrumen dengan standar Cd 0,02 mg/kg

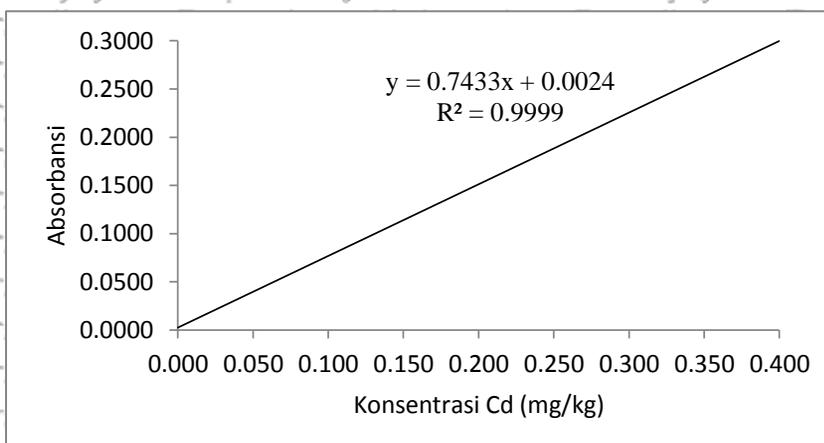
[Cd]	Abs	intersep	slope	terukur	rata-rata	SD	RSD (%)	Recovery
0.02	0.0178	0.0024	0.7433	0.021	0.021	0.0003	1.527	104.34
0.02	0.0179	0.0024	0.7433	0.021				
0.02	0.0182	0.0024	0.7433	0.021				
0.02	0.0181	0.0024	0.7433	0.021				
0.02	0.0181	0.0024	0.7433	0.021				
0.02	0.0174	0.0024	0.7433	0.020				
0.02	0.0179	0.0024	0.7433	0.021				
0.02	0.0180	0.0024	0.7433	0.021				
0.02	0.0178	0.0024	0.7433	0.021				



5. Analisis logam Cd

Tanggal analisa 4 maret 2016
analisa kadar Cd dalam coklat

conc	abs
0.000	0.0002
0.020	0.0174
0.040	0.0336
0.100	0.0780
0.200	0.1504
0.400	0.2995



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0334	0.0024	0.7433	0.042
Cokelat 1	0.0333	0.0024	0.7433	0.042
Cokelat 1	0.0343	0.0024	0.7433	0.043
Cokelat 1	0.0342	0.0024	0.7433	0.043
Cokelat 1	0.0349	0.0024	0.7433	0.044

Konsentrasi akhir logam Cd dalam coklat A

sampel	[Cd] * 1000	E	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)
Cokelat 1	42	-0.001	0.005	0.200	1.050	1.1	0.0209	1.955
Cokelat 1	42	-0.001	0.005	0.200	1.050			
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 1	44	-0.001	0.005	0.200	1.100			

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0353	0.0024	0.7433	0.044
Cokelat 2	0.0351	0.0024	0.7433	0.044
Cokelat 2	0.0363	0.0024	0.7433	0.046
Cokelat 2	0.0361	0.0024	0.7433	0.045
Cokelat 2	0.0352	0.0024	0.7433	0.044

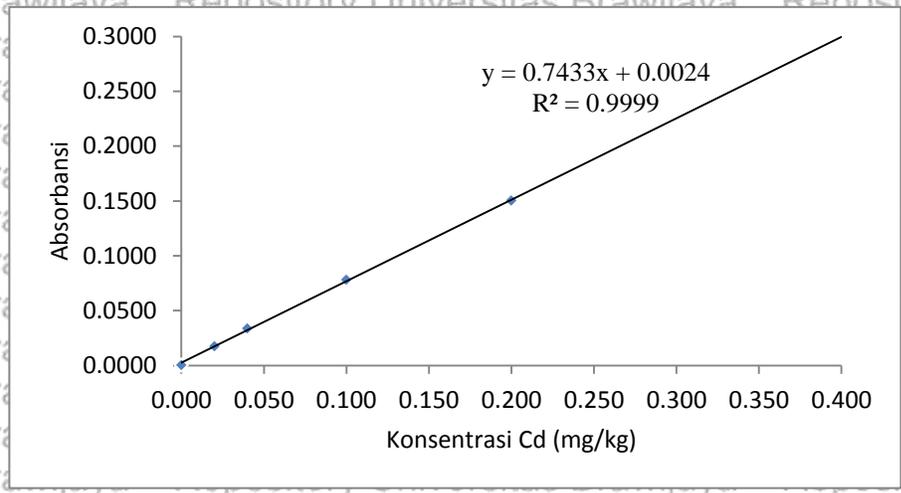
Konsentrasi akhir logam Cd dalam coklat B

sampel	[Cd] * 1000	E	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)
Cokelat 2	44	-0.001	0.005	0.200	1.100	1.1	0.0224	2.005
Cokelat 2	44	-0.001	0.005	0.200	1.100			
Cokelat 2	46	-0.001	0.005	0.200	1.150			
Cokelat 2	45	-0.001	0.005	0.200	1.125			
Cokelat 2	44	-0.001	0.005	0.200	1.100			

6. Uji presisi logam Cd

Tanggal analisa 4 maret 2016 3 jam kemudian analisa kadar Cd dalam coklat

conc	abs
0.000	0.0002
0.020	0.0174
0.040	0.0336
0.100	0.0780
0.200	0.1504
0.400	0.2995



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0351	0.0024	0.7433	0.044
Cokelat 1	0.0343	0.0024	0.7433	0.043
Cokelat 1	0.0342	0.0024	0.7433	0.043
Cokelat 1	0.0328	0.0024	0.7433	0.041
Cokelat 1	0.0335	0.0024	0.7433	0.042

Konsentrasi akhir logam Cd dalam coklat A

sampel	[Cd] µg/kg	E	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)
Cokelat 1	44	-0.001	0.005	0.200	1.100	1.065	0.0285	2.676
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 1	41	-0.001	0.005	0.200	1.025			
Cokelat 1	42	-0.001	0.005	0.200	1.050			

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0349	0.0024	0.7433	0.044
Cokelat 2	0.0345	0.0024	0.7433	0.043
Cokelat 2	0.0358	0.0024	0.7433	0.045
Cokelat 2	0.0359	0.0024	0.7433	0.045
Cokelat 2	0.0352	0.0024	0.7433	0.044



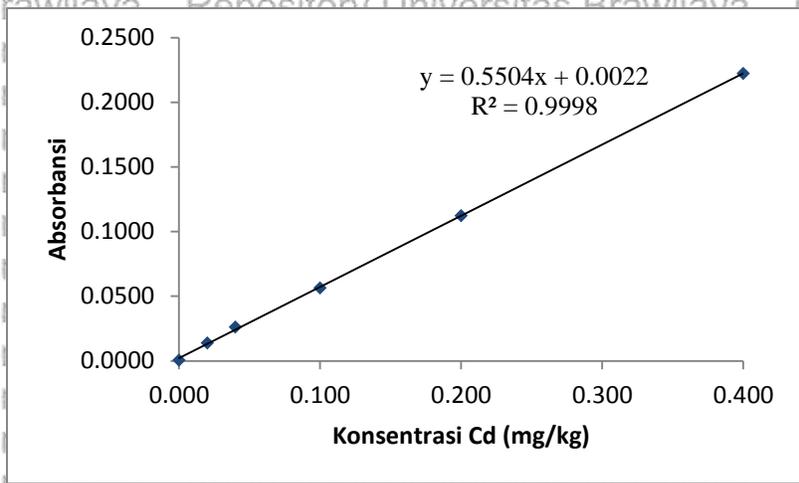
Konsentrasi akhir logam Cd dalam cokelat B

sampel	[Cd] * 1000	E	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)
Cokelat 2	44	-0.001	0.005	0.200	1.100	1.105	0.0209	1.893
Cokelat 2	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 2	45	-0.001	0.005	0.200	1.125			
Cokelat 2	45	-0.001	0.005	0.200	1.125			
Cokelat 2	44	-0.001	0.005	0.200	1.100			

7. Uji presisi cd pada hari berbeda

7 maret 16
analisa kadar Cd dalam coklat

conc	abs
0.000	0.0006
0.020	0.0138
0.040	0.0260
0.100	0.0563
0.200	0.1123
0.400	0.2223



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0258	0.0022	0.5504	0.043
Cokelat 1	0.0253	0.0022	0.5504	0.042
Cokelat 1	0.0259	0.0022	0.5504	0.043
Cokelat 1	0.0257	0.0022	0.5504	0.043
Cokelat 1	0.0264	0.0022	0.5504	0.044

Konsentrasi akhir logam Cd dalam coklat A

sampel	[Cd] µg/kg	E	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075	1.075	0.0177	1,644
Cokelat 1	42	-0.001	0.005	0.200	1.050			
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 1	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 1	44	-0.001	0.005	0.200	1.100			

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0265	0.0022	0.5504	0.044
Cokelat 2	0.0268	0.0022	0.5504	0.045
Cokelat 2	0.0271	0.0022	0.5504	0.045
Cokelat 2	0.0268	0.0022	0.5504	0.045
Cokelat 2	0.0279	0.0022	0.5504	0.047



sampel	[Cd] µg/kg	E	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)
Cokelat 2	44	-0.001	0.005	0.200	1.100	1.130	0.0274	2.423
Cokelat 2	45	-0.001	0.005	0.200	1.125			
Cokelat 2	45	-0.001	0.005	0.200	1.125			
Cokelat 2	45	-0.001	0.005	0.200	1.125			
Cokelat 2	47	-0.001	0.005	0.200	1.175			

$$\text{konsentrasi Cd (mg/kg)} = \frac{(D-E) \times Fp \times V}{W}$$

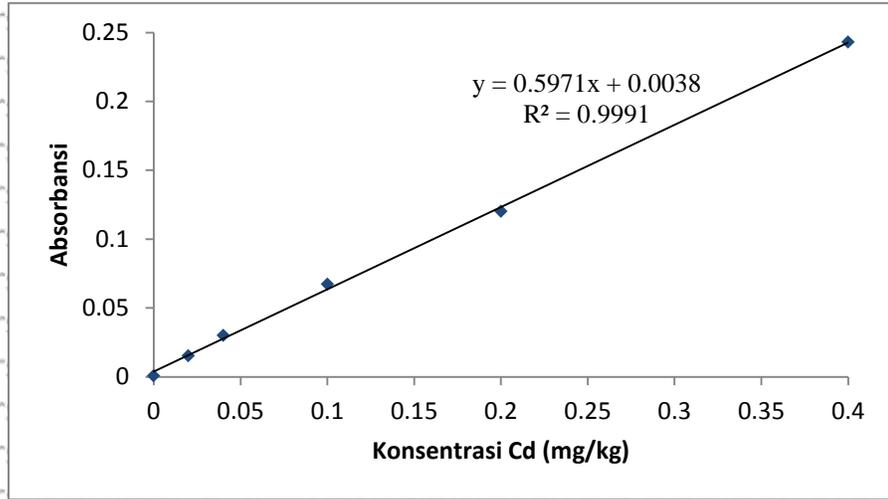
- D : Konsentrasi sampel dari SSA (µg/L)
- E : Kosentrasi blanko dari hasil SSA (µg/L)
- V : Volume akhir larutan (L)
- W : berat sampel (g)
- Fp : faktor pengenceran

8. Uji akurasi metode analisis Cd

Cek akurasi dengan metode spike

20-Apr-16

conc	abs
0.0000	0.0008
0.0200	0.0152
0.0400	0.0301
0.1000	0.0673
0.2000	0.1202
0.4000	0.2430



sampel yang volumenya 5 mL (v total 5,25) (volume standar yang ditambahkan 5 % dari volume total sampel), dengan demikian konsentrasi spike sebesar 1,19 mg/kg

Spike

sampel	Spike (mg/kg)	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	-	0.0290	0.0038	0.5971	0.042
Cokelat 1	1.19	0.0561	0.0038	0.5971	0.088
Cokelat 1	-	0.0553	0.0038	0.5971	0.086
Cokelat 1	-	0.0547	0.0038	0.5971	0.085
Cokelat 1	-	0.0576	0.0038	0.5971	0.090
Cokelat 1	-	0.0551	0.0038	0.5971	0.086

Konsentrasi akhir logam Cd dalam coklat yang berbeda

sampel	[Cd] µg/kg	[spike]	[Blanko]	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD (%)	Recovery (%)
Cokelat 1	42	-	-0.001	0.005	0.200	1.050	2.175	0.050	2.299	93.810
Cokelat 1	88	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.200				
Cokelat 1	86	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.150				
Cokelat 1	85	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.125				
Cokelat 1	90	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.250				
Cokelat 1	86	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.150				



sampel	Spike	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	-	0.0301	0.0038	0.5971	0.044
Cokelat 2	1.19	0.0589	0.0038	0.5971	0.092
Cokelat 2		0.0594	0.0038	0.5971	0.093
Cokelat 2		0.0586	0.0038	0.5971	0.092
Cokelat 2		0.0611	0.0038	0.5971	0.096
Cokelat 2		0.0589	0.0038	0.5971	0.092

sampel	[Cd] µg/kg	[spike]	[Blanko]	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD	Recovery (%)
Cokelat 2	44	-	-0.001	0.005	0.200	1.100	2.325	0.043	1.862	103.182
Cokelat 2	92	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.300				
Cokelat 2	93	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.325				
Cokelat 2	92	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.300				
Cokelat 2	96	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.400				
Cokelat 2	92	1.190	-0.001	0.005	0.200	2.300				

$$\text{perolehan kembali (\%)} = \frac{[\text{sampel yang dispike}] - [\text{standar yang ditam}]}{[\text{sampel tanpa spike}]} \times 100$$



9. Robustness/kekuatan metode analisis Cd

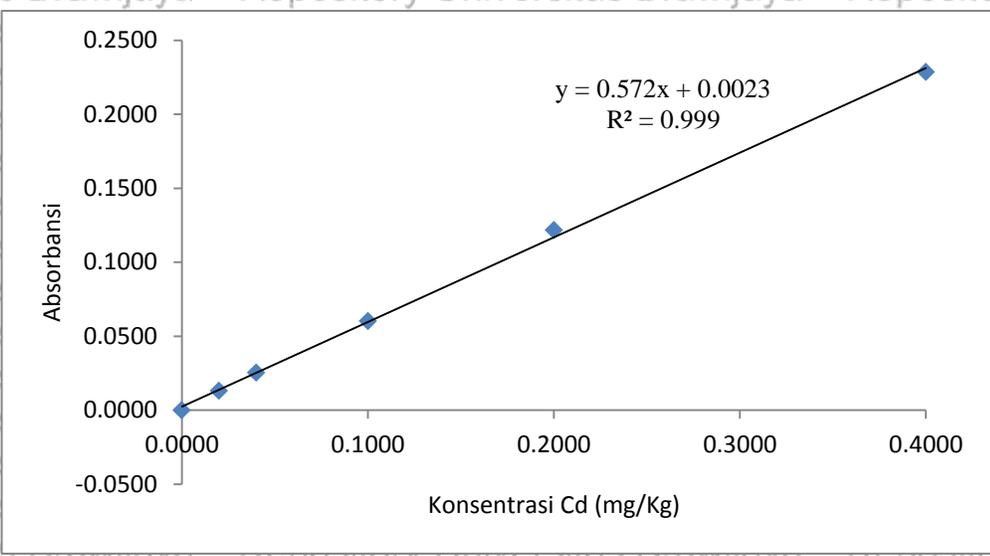
Robustness 21 juni 2016

kondisi pengukuran SSA

Parameter

lebar celah	0,5 nm
waktu pengukuran	3 detik
waktu tunggu pembacaan	3 detik
arus lampu	4 mA

conc	abs
0.0000	-0.0001
0.0200	0.0130
0.0400	0.0253
0.1000	0.0602
0.2000	0.1216
0.4000	0.2285



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0252	0.0023	0.572	0.040
Cokelat 1	0.0245	0.0023	0.572	0.039
Cokelat 1	0.0257	0.0023	0.572	0.041
Cokelat 1	0.0256	0.0023	0.572	0.041
Cokelat 1	0.0246	0.0023	0.572	0.039

sampel	[Cd] µg/kg	[B] µg/kg	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD
Cokelat 1	40	-0.001	0.005	0.200	1.000	1.000	0.0250	2.500
Cokelat 1	39	-0.001	0.005	0.200	0.975			
Cokelat 1	41	-0.001	0.005	0.200	1.025			
Cokelat 1	41	-0.001	0.005	0.200	1.025			
Cokelat 1	39	-0.001	0.005	0.200	0.975			

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0262	0.00231	0.57202	0.042
Cokelat 2	0.0261	0.00231	0.57202	0.042
Cokelat 2	0.0267	0.00231	0.57202	0.043
Cokelat 2	0.0259	0.00231	0.57202	0.041
Cokelat 2	0.0251	0.00231	0.57202	0.040



sampel	[Cd] µg/kg	[B] µg/kg	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD
Cokelat 2	42	-0.001	0.005	0.200	1.050	1.040	0.0285	2.741
Cokelat 2	42	-0.001	0.005	0.200	1.050			
Cokelat 2	43	-0.001	0.005	0.200	1.075			
Cokelat 2	41	-0.001	0.005	0.200	1.025			
Cokelat 2	40	-0.001	0.005	0.200	1.000			

[B] adalah konsentrasi blangko

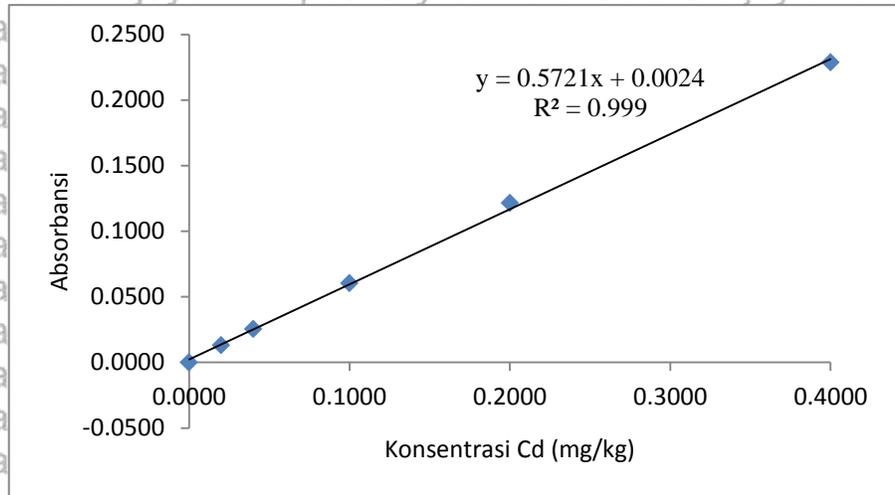


kondisi pengukuran SSA

Parameter

lebar celah	0,2 nm
waktu pengukuran	4 detik
waktu tunggu pembacaan	4 detik
arus lampu	6 mA

conc	abs
0.0000	-0.0001
0.0200	0.0131
0.0400	0.0254
0.1000	0.0603
0.2000	0.1216
0.4000	0.2286



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0245	0.0024	0.5721	0.039
Cokelat 1	0.0259	0.0024	0.5721	0.041
Cokelat 1	0.0255	0.0024	0.5721	0.040
Cokelat 1	0.0258	0.0024	0.5721	0.041
Cokelat 1	0.0263	0.0024	0.5721	0.042

sampel	[Cd] µg/kg	[B] µg/kg	V (L)	W (g)	[akhir Cd]	rata-rata	SD	RSD
Cokelat 1	39	-0.001	0.005	0.200	0.975	1.015	0.0285	2.808
Cokelat 1	41	-0.001	0.005	0.200	1.025			
Cokelat 1	40	-0.001	0.005	0.200	1.000			
Cokelat 1	41	-0.001	0.005	0.200	1.025			
Cokelat 1	42	-0.001	0.005	0.200	1.050			

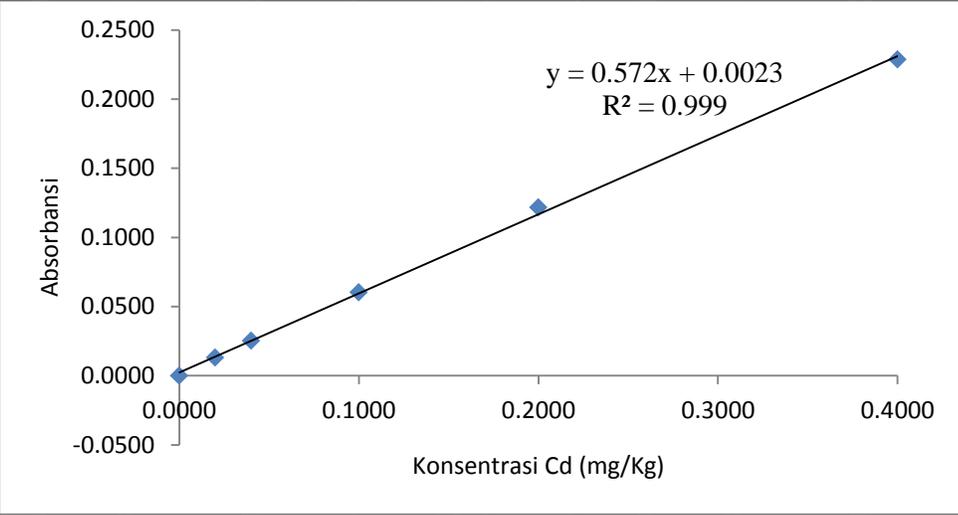
sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0268	0.0024	0.5721	0.043
Cokelat 2	0.0267	0.0024	0.5721	0.042
Cokelat 2	0.0265	0.0024	0.5721	0.042
Cokelat 2	0.0259	0.0024	0.5721	0.041
Cokelat 2	0.0277	0.0024	0.5721	0.044



10. Analisa logam Cd menggunakan metode destruksi kering (standar SNI 7934:2014)

Analisis logam Cd dengan metode standar SNI 3974:2014 15 Juli 2016

conc	abs
0.0000	-0.0001
0.0200	0.0130
0.0400	0.0253
0.1000	0.0602
0.2000	0.1216
0.4000	0.2285



kandungan logam (mg/kg) = $c/w \times v$

ket C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi ug/mL

V adalah volume larutan akhir (mL)

W adalah berat sampel (g)

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.1051	0.0023	0.572	0.180
Cokelat 1	0.1100	0.0023	0.572	0.188
Cokelat 1	0.1072	0.0023	0.572	0.183
Cokelat 1	0.1091	0.0023	0.572	0.187
Cokelat 1	0.1131	0.0023	0.572	0.194

kandungan logam (mg/kg)

sampel	C	W	V	conc	rata-rata	SD	RSD
Cokelat 1	0.180	10	50	0.900	0.932	0.027	2.854
Cokelat 1	0.188	10	50	0.940			
Cokelat 1	0.183	10	50	0.915			
Cokelat 1	0.187	10	50	0.935			
Cokelat 1	0.194	10	50	0.970			

uji akurasi (% recovery), diulangi sesuai arahan pembimbing (2-3 agustus 2016)

standar yang ditambahkan bersamaan dengan sampel yang akan ditanur 450 C untuk melihat seberapa besar hilangnya analit dalam sampel. konsentrasi standar yang ditambahkan adalah 20 mg/kg, volume 2,5 mL, atau 5 % dari volume total 50 mL



sampel	Spike	Abs	intersep	slope	conc	rata-rata	SD
Cokelat 1	0	0.1048	0.0023	0.572	0.179	0.354	0.009025
Cokelat 1	1	0.1976	0.0023	0.572	0.341		
Cokelat 1	1	0.2024	0.0023	0.572	0.350		
Cokelat 1	1	0.2052	0.0023	0.572	0.355		
Cokelat 1	1	0.2114	0.0023	0.572	0.366		
Cokelat 1	1	0.2071	0.0023	0.572	0.358		

kandungan logam (mg/kg)

sampel	Spike	C	W	V	conc	terukur	rata-rata	SD	Recovery (%)
Cokelat 1	0	0.179	10	50	0.895		1.774	0.040	
Cokelat 1	1.0	0.345	10	50	1.725	0.895			81.0
Cokelat 1	1.0	0.350	10	50	1.750	0.895			83.8
Cokelat 1	1.0	0.355	10	50	1.775	0.895			86.6
Cokelat 1	1.0	0.366	10	50	1.830	0.895			92.7
Cokelat 1	1.0	0.358	10	50	1.791	0.895			88.3
rata-rata									86.5

$$\text{perolehan kembali (\%)} = \frac{[\text{sampel yang dispike}] - [\text{standar yang ditamb}] \times 100}{[\text{sampel tanpa spike}]}$$



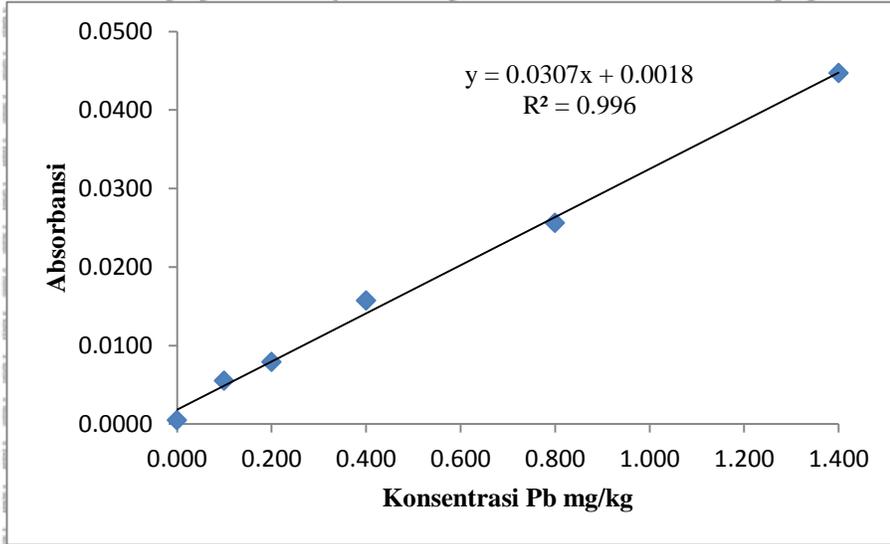
Lampiran 5. Analisis Logam Pb dalam Cokelat

1. penentuan linieritas

analisis Pb ini dilakukan penambahan larutan EDTA 0,1 M sebanyak 2 mL

26-Apr-16

conc	abs
0.000	0.0005
0.100	0.0055
0.200	0.0079
0.400	0.0157
0.800	0.0256
1.400	0.0447



2. Penentuan IDL, blanko HNO3 0,5 M tanpa microwave

Labu	Abs	rata-rata	+ slope	intersep	[Pb]
1	0.0019	0.0023	0.0018	0.0307	0.016
2	0.0021				
3	0.0015				
4	0.0017				
5	0.0017				
6	0.0017				
7	0.0018				
8	0.0016				
9	0.0015				
<u>rata-rata</u>		0.0017			
<u>SD</u>		0.0002			



3. Penentuan LOD

HNO₃ pekat dimicrowave 2 menit

Blanko	Absorba nsi	rata-rata + 3SD	intersep	slope	[Pb]
1	0.0020	0.0024	0.0018	0.0307	0.020
2	0.0020				
		rata-rata + 10SD	intersep	slope	[Pb]
3	0.0022				
4	0.0021	0.0031	0.0018	0.0307	0.042
5	0.0022				
6	0.0020				
7	0.0022				
8	0.0022				
9	0.0021				
SD	0.0001				
rata-rata	0.0021				

4. presisi dan akurasi instrumen dg standar Pb

[Pb]	Abs	intersep	slope	[Pb] teruk	SD	RSD (%)	Recovery
0.20	0.0079	0.0018	0.0307	0.199	0.0037	1.870	98.44
0.20	0.0079	0.0018	0.0307	0.199			
0.20	0.0078	0.0018	0.0307	0.195			
0.20	0.0079	0.0018	0.0307	0.199			
0.20	0.0076	0.0018	0.0307	0.189			
0.20	0.0079	0.0018	0.0307	0.199			
0.20	0.0078	0.0018	0.0307	0.195			
0.20	0.0080	0.0018	0.0307	0.202			
0.20	0.0078	0.0018	0.0307	0.195			
rata-rata				0.197			

5. Analisis Pb dalam coklat

sampel 0,2 g + HNO₃ 65 % 5 mL, dimicrowave 2 menit (900watt)

didinginkan dan disaring, kemudian diukur dengan SSA-AA240 varian

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0042	0.0018	0.0307	0.078
Cokelat 1	0.0042	0.0018	0.0307	0.078
Cokelat 1	0.0041	0.0018	0.0307	0.075
Cokelat 1	0.0043	0.0018	0.0307	0.081
Cokelat 1	0.0042	0.0018	0.0307	0.078



Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb]	rata2	SD	RSD
--------	----------------	--------	-------	-------	---------------	-------	----	-----

Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475	1.5	0.0530	3.60
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			
Cokelat 1	75	19	0.005	0.200	1.400			
Cokelat 1	81	19	0.005	0.200	1.550			
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			

$$\text{blanko} = 0,019 \times 1000$$

sampel	Abs	intersep	slope	conc
--------	-----	----------	-------	------

Cokelat 2	0.0042	0.0018	0.0307	0.078
Cokelat 2	0.0044	0.0018	0.0307	0.085
Cokelat 2	0.0043	0.0018	0.0307	0.081
Cokelat 2	0.0043	0.0018	0.0307	0.081
Cokelat 2	0.0042	0.0018	0.0307	0.078

Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

Kode sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb]	rata2	SD	RSD
----------------	----------------	--------	-------	-------	---------------	-------	----	-----

Cokelat 2	78	19	0.005	0.200	1.475	1.540	0.0720	4.677
Cokelat 2	85	19	0.005	0.200	1.650			
Cokelat 2	81	19	0.005	0.200	1.550			
Cokelat 2	81	19	0.005	0.200	1.550			
Cokelat 2	78	19	0.005	0.200	1.475			

$$\text{konsentrasi Pb (mg/kg)} = \frac{(D-E) \times Fp \times V}{W}$$

D : Konsentrasi sampel dari SSA ($\mu\text{g/L}$)

E : Kosentrasi blanko dari hasil SSA ($\mu\text{g/L}$)

V : Volume akhir larutan (L)

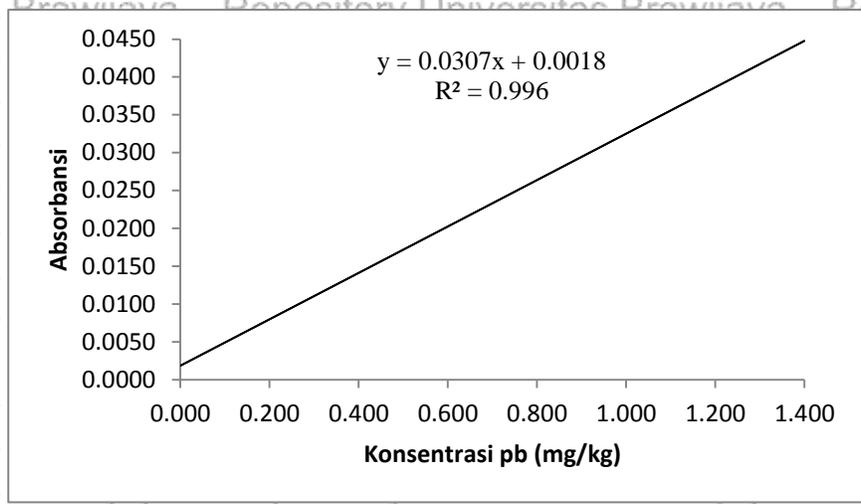
Fp : Faktor pengenceran

W : Berat sampel (g)

6. Uji presisi Pb

26-Apr-16 3 jam kemudian

conc	abs
0.000	0.0005
0.100	0.0055
0.200	0.0079
0.400	0.0157
0.800	0.0256
1.400	0.0447



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0040	0.0018	0.0307	0.072
Cokelat 1	0.0042	0.0018	0.0307	0.078
Cokelat 1	0.0042	0.0018	0.0307	0.078
Cokelat 1	0.0041	0.0018	0.0307	0.075
Cokelat 1	0.0042	0.0018	0.0307	0.078
coco				

Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb rata2	SD	RSD (%)	
Cokelat 1	72	19	0.005	0.200	1.325	1.430	0.0671	4.691
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			
Cokelat 1	75	19	0.005	0.200	1.400			
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			

blanko = 0,019 x 1000

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0044	0.0018	0.0307	0.085
Cokelat 2	0.0045	0.0018	0.0307	0.088
Cokelat 2	0.0044	0.0018	0.0307	0.085
Cokelat 2	0.0043	0.0018	0.0307	0.081
Cokelat 2	0.0045	0.0018	0.0307	0.088



Konsentrasi akhir logam Pb dalam coklat

sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb rata2	SD	RSD (%)	
Cokelat 2	85	19	0.005	0.200	1.650	1.6600	0.0720	4.339
Cokelat 2	88	19	0.005	0.200	1.725			
Cokelat 2	85	19	0.005	0.200	1.650			
Cokelat 2	81	19	0.005	0.200	1.550			
Cokelat 2	88	19	0.005	0.200	1.725			

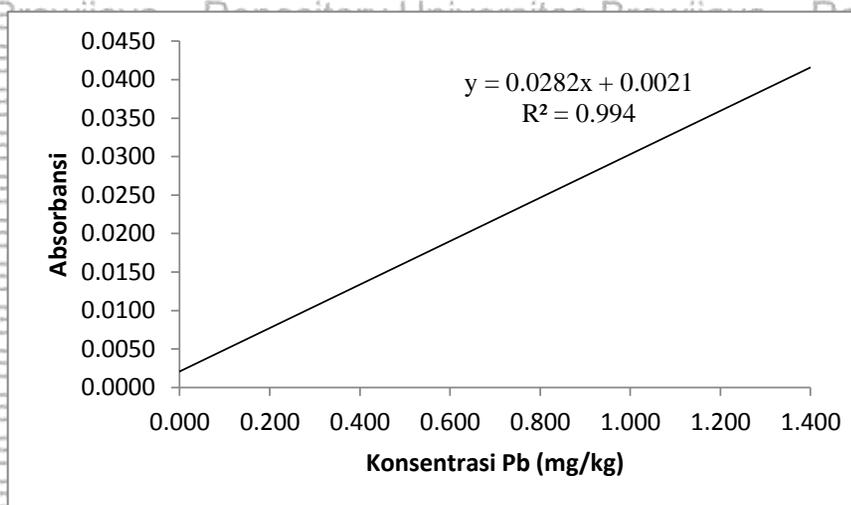
$$\text{konsentrasi Pb (mg/kg)} = \frac{(D-E) \times Fp \times V}{W}$$

- D : Konsentrasi sampel dari SSA (µg/L)
- E : Kosentrasi blanko dari hasil SSA (µg/L)
- V : Volume akhir larutan (L)
- Fp : Faktor pengenceran
- W : Berat sampel (g)



7. Uji presisi Pb pada hari berbeda
 analisis Pb cokelat pada hari berbeda
 30-Apr-16

conc	abs
0.000	0.0001
0.100	0.0055
0.200	0.0091
0.400	0.0140
0.800	0.0242
1.400	0.0414



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0044	0.0021	0.0282	0.082
Cokelat 1	0.0043	0.0021	0.0282	0.078
Cokelat 1	0.0042	0.0021	0.0282	0.074
Cokelat 1	0.0043	0.0021	0.0282	0.078
Cokelat 1	0.0043	0.0021	0.0282	0.078

Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb rata2]	SD	RSD (%)	
Cokelat 1	82	19	0.005	0.200	1.575	1.4750	0.0707	4.794
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			
Cokelat 1	74	19	0.005	0.200	1.375			
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			
Cokelat 1	78	19	0.005	0.200	1.475			

sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	0.0046	0.0021	0.0282	0.089
Cokelat 2	0.0044	0.0021	0.0282	0.082
Cokelat 2	0.0045	0.0021	0.0282	0.085
Cokelat 2	0.0045	0.0021	0.0282	0.085
Cokelat 2	0.0046	0.0021	0.0282	0.089

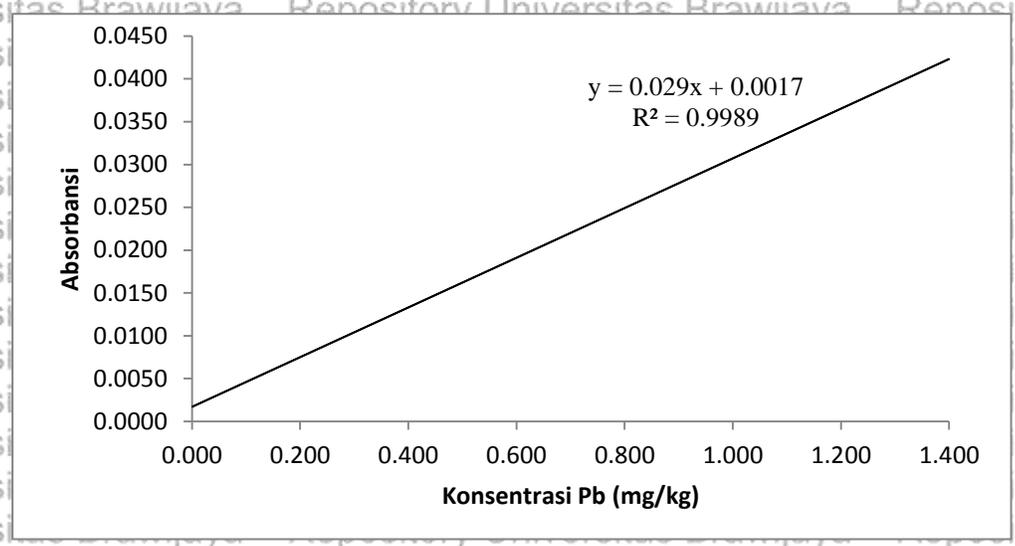
Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb rata2]	SD	RSD (%)	
Cokelat 2	89	19	0.005	0.200	1.750	1.6750	0.0750	4.478
Cokelat 2	82	19	0.005	0.200	1.575			
Cokelat 2	85	19	0.005	0.200	1.650			
Cokelat 2	85	19	0.005	0.200	1.650			
Cokelat 2	89	19	0.005	0.200	1.750			

8. Uji akurasi Pb

cek akurasi Pb (3 mei 2016)

conc	abs
0.000	0.0008
0.100	0.0049
0.200	0.0078
0.400	0.0138
0.800	0.0249
1.400	0.0421



Sampel 0,2 gram + HNO₃ 65 % kemudian dimicrowave selama 2 menit didinginkan selama 5 menit, disaring dengan kertas whatman 40 kemudian dianalisis menggunakan SSA AA240 pada panjang gelombang 283 nm

ditambahkan standar Pb konsentrasi 30 mg/kg sebanyak 0,25 mL pada sampel yang volumenya 5 mL (v tot 5,25) (volume standar yang ditambahkan 5 % dari volume total sampel), dengan demikian konsentrasi yang ditambahkan sebesar 1,43 mg/kg

sampel	Spike (mg/kg)	Abs	intersep	slope	conc
cokelat 1	-	0.0039	0.0017	0.029	0.076
cokelat 1	1.43	0.0054	0.0017	0.029	0.128
cokelat 1	-	0.0056	0.0017	0.029	0.134
cokelat 1	-	0.0053	0.0017	0.029	0.124
cokelat 1	-	0.0055	0.0017	0.029	0.131
cokelat 1	-	0.0054	0.0017	0.029	0.128

Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

sampel	[spike] (mg/kg)	[Pb] µg/kg	[B] µg/kg	V (L)	W (g)	[akhir rata-rata Pb]	SD	RSD	Recovery (%)
Cokelat 1	-	76	19	0.005	0.200	1.425			
Cokelat 1	1.43	128	19	0.005	0.200	2.725	2.750	0.0935	3.402
Cokelat 1	-	134	19	0.005	0.200	2.875			
Cokelat 1	-	124	19	0.005	0.200	2.625			
Cokelat 1	-	131	19	0.005	0.200	2.800			
Cokelat 1	-	128	19	0.005	0.200	2.725			



sampel	Spike (mg/kg)	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 2	-	0.0041	0.0017	0.029	0.083
Cokelat 2	1.43	0.0058	0.0017	0.029	0.141
Cokelat 2		0.0057	0.0017	0.029	0.138
Cokelat 2		0.0056	0.0017	0.029	0.134
Cokelat 2		0.0055	0.0017	0.029	0.131
Cokelat 2		0.0057	0.0017	0.029	0.138

Konsentrasi akhir logam Pb dalam cokelat

sampel	[spike] (mg/kg)	[Pb] µg/kg	[B] µg/kg	V (L)	W (g)	[akhir rata-rata Pb]	SD	RSD	Recovery (%)
Cokelat 2	-	83	19	0.005	0.200	1.600			
Cokelat 2	1.43	141	19	0.005	0.200	3.050	2.935	0.0978	3.332
Cokelat 2		138	19	0.005	0.200	2.975			
Cokelat 2		134	19	0.005	0.200	2.875			
Cokelat 2		131	19	0.005	0.200	2.800			
Cokelat 2		138	19	0.005	0.200	2.975			

$$\text{perolehan kembali (\%)} = \frac{[\text{sampel yang dispike}] - [\text{standar yang ditam}]}{[\text{sampel tanpa spike}]} \times 100$$



9. Robustness /kekuatan metode

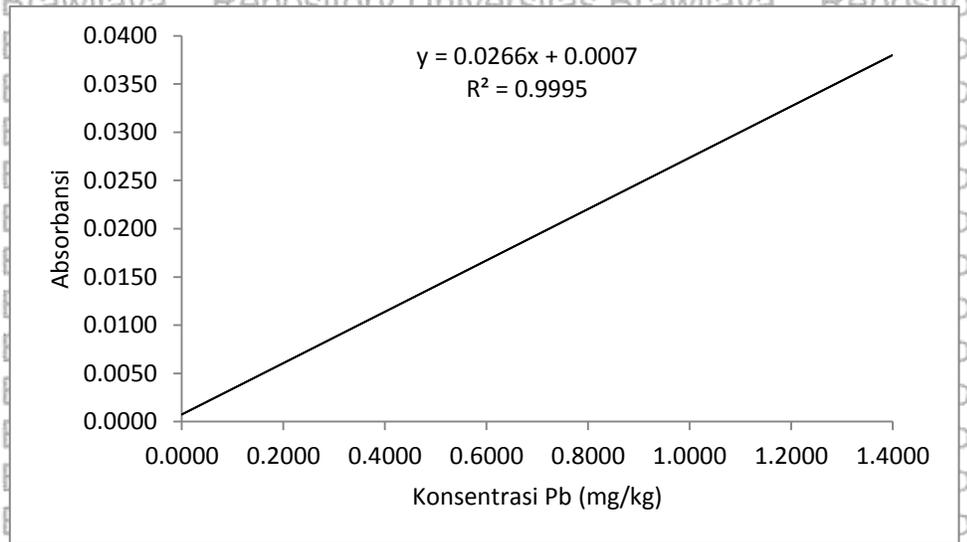
robustness 21 juni 2016

Kondisi pengukuran

Parameter

lebar celah	0,5 nm
waktu pengukuran	3 detik
waktu tunggu pembacaan	3 detik
arus lampu	10 mA

conc	abs
0.0000	0.0003
0.1000	0.0033
0.2000	0.0062
0.4000	0.0117
0.8000	0.0224
1.4000	0.0377



sampel	Abs	intersep	slope	conc
cokelat 1	0.0029	0.0007	0.0266	0.083
cokelat 1	0.0028	0.0007	0.0266	0.079
cokelat 1	0.0029	0.0007	0.0266	0.083
cokelat 1	0.0029	0.0007	0.0266	0.083
cokelat 1	0.0028	0.0007	0.0266	0.079

ID sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb]	rata2	SD	RSD
cokelat 1	83	19	0.005	0.200	1.600	1.560	0.0548	3.511
cokelat 1	79	19	0.005	0.200	1.500			
cokelat 1	83	19	0.005	0.200	1.600			
cokelat 1	83	19	0.005	0.200	1.600			
cokelat 1	79	19	0.005	0.200	1.500			

ID sampel	Abs	intersep	slope	conc
cokelat 2	0.003	0.0007	0.0266	0.086
cokelat 2	0.0029	0.0007	0.0266	0.083
cokelat 2	0.0029	0.0007	0.0266	0.083
cokelat 2	0.0028	0.0007	0.0266	0.079
cokelat 2	0.003	0.0007	0.0266	0.086

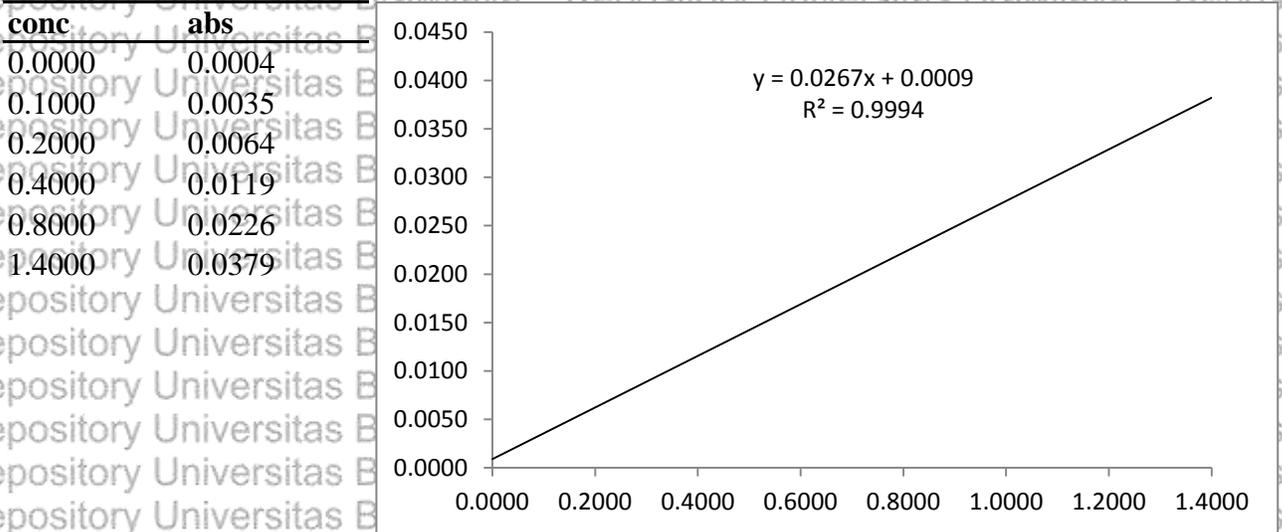
ID sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb] rata2	SD	RSD	
cokelat 2	86	19	0.005	0.200	1.675	1.610	0.0720	4.474
cokelat 2	83	19	0.005	0.200	1.600			
cokelat 2	83	19	0.005	0.200	1.600			
cokelat 2	79	19	0.005	0.200	1.500			
cokelat 2	86	19	0.005	0.200	1.675			



Kondisi pengukuran

Parameter

lebar celah	0,2 nm
waktu pengukuran	4 detik
waktu tunggu pembacaan	4 detik
arus lampu	6 mA



ID sampel	Abs	intersep	slope	conc
cokelat 1	0.0031	0.0009	0.0267	0.082
cokelat 1	0.003	0.0009	0.0267	0.079
cokelat 1	0.0029	0.0009	0.0267	0.075
cokelat 1	0.003	0.0009	0.0267	0.079
cokelat 1	0.0031	0.0009	0.0267	0.082

ID sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb]	rata2	SD	RSD
cokelat 1	82	19	0.005	0.200	1.575	1.510	0.0720	4.770
cokelat 1	79	19	0.005	0.200	1.500			
cokelat 1	75	19	0.005	0.200	1.400			
cokelat 1	79	19	0.005	0.200	1.500			
cokelat 1	82	19	0.005	0.200	1.575			

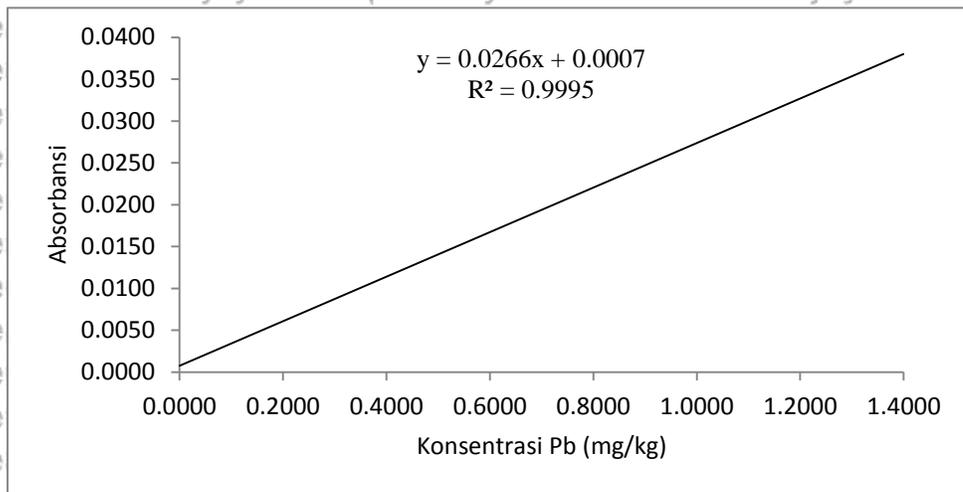
ID sampel	Abs	intersep	slope	conc
cokelat 2	0.0031	0.0009	0.0267	0.082
cokelat 2	0.0031	0.0009	0.0267	0.082
cokelat 2	0.0030	0.0009	0.0267	0.079
cokelat 2	0.0032	0.0009	0.0267	0.086
cokelat 2	0.0032	0.0009	0.0267	0.086

ID sampel	[Pb] * 1000	Blanko	V (L)	W (g)	[akhir Pb]	rata2	SD	RSD
cokelat 2	82	19	0.005	0.200	1.575	1.600	0.0750	4.688
cokelat 2	82	19	0.005	0.200	1.575			
cokelat 2	79	19	0.005	0.200	1.500			
cokelat 2	86	19	0.005	0.200	1.675			
cokelat 2	86	19	0.005	0.200	1.675			

10. Analisis logam Cd dan Pb menggunakan metode standar (SNI 7934:2014)

18 juli 2016

conc	abs
0.0000	0.0003
0.1000	0.0033
0.2000	0.0062
0.4000	0.0117
0.8000	0.0224
1.4000	0.0377



sampel	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0.0077	0.0007	0.0266	0.263
Cokelat 1	0.0074	0.0007	0.0266	0.252
Cokelat 1	0.0078	0.0007	0.0266	0.267
Cokelat 1	0.0081	0.0007	0.0266	0.278
Cokelat 1	0.0082	0.0007	0.0266	0.282

kandungan logam (mg/kg)							
sampel	C	W	V	conc	rata-rata	SD	RSD
Cokelat 1	0.260	10	50	1.300	1.32	0.048	3.623
Cokelat 1	0.252	10	50	1.260			
Cokelat 1	0.267	10	50	1.335			
Cokelat 1	0.278	10	50	1.390			
Cokelat 1	0.263	10	50	1.315			

uji recovery diulangi pada tanggal 2-4 agustus 2016

standar yang ditambahkan bersamaan dengan sampel yang akan ditanur 450 C untuk melihat seberapa besar hilangnya analit dalam sampel. konsentrasi standar yang ditambahkan 26 mg/kg, volume 2,5 mL, atau 5 % dari volume total 50 mL

sampel	Spike	Abs	intersep	slope	conc
Cokelat 1	0	0.0077	0.0007	0.0266	0.263
Cokelat 1	1,3	0.0138	0.0007	0.0266	0.492
Cokelat 1	1,3	0.0135	0.0007	0.0266	0.481
Cokelat 1	1,3	0.0139	0.0007	0.0266	0.496
Cokelat 1	1,3	0.0137	0.0007	0.0266	0.489
Cokelat 1	1,3	0.0136	0.0007	0.0266	0.485



kandungan logam (mg/kg)

sampel	Spike	C	W	V	conc	conc+spike	SD	Recovery (%)
Cokelat 1	0	0.263	10	50	1.315			
Cokelat 1	1.3	0.492	10	50	1.315	2.460	0.044	88.21
Cokelat 1	1.3	0.481	10	50	1.315	2.405		84.03
Cokelat 1	1.3	0.496	10	50	1.315	2.480		89.73
Cokelat 1	1.3	0.474	10	50	1.315	2.370		81.37
Cokelat 1	1.3	0.485	10	50	1.315	2.425		85.55
						2.428	rata-rata	85.78

kandungan logam (mg/kg) = $c/w \times v$

ket C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi ug/mL

V adalah volume larutan akhir (mL)

W adalah berat sampel (g)



Lampiran 6. Uji t independen (sig 5 %)

T-TEST GROUPS=Metode(1 2)
/MISSING=ANALYSIS
/VARIABLES=Kadar Cd
/CRITERIA=CI(.95).

T-Test

Notes

Output Created	11/02/21:10:01	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	10
Missing Value Handling	Definition of Missing	User defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on the cases with no missing or out-of-range data for any variable in the analysis.
Syntax	T-TEST GROUPS=Metode(1 2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=KadarCd /CRITERIA=CI(.95).	
Resources	Processor Time	00:00:00.03
	Elapsed Time	00:00:00.16

[DataSet0]

Group Statistics

Metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Cd Metode GM	5	1.00000	.025000	.011180
Metode Std	5	.93200	.026599	.011895

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
Kadar Cd	Equal variances assumed	.002	.963	4.165	8	.003	.068000	.016325	-.030355	.105645
	Equal variances not assumed			4.165	7.969	.003	.068000	.016325	-.030330	.105670

keterangan

Metode GM : Gelombang mikro
Metode Std : Standar (SNI7934:2014)



NEW FILE.
 DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
 T-TEST GROUPS=Metode(1,2)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=Recovery Cd
 /CRITERIA=CI(.95).

T-Test

Notes

Output Created	07-Aug-2016 21:14:47	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data	10
	File	
Missing Value Handling	Definition of Missing	User defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on the cases with no missing or out-of-range data for any variable in the analysis.
Syntax	T-TEST GROUPS=Metode(1,2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=RecoveryCd /CRITERIA=CI(.95).	
Resources	Processor Time	00:00:00.016
	Elapsed Time	00:00:00.007

[DataSet1]

Group Statistics

Metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Recovery Cd	5	93.820	4.7751	2.1355
	5	86.480	4.4505	1.9903

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Recovery Cd	Equal variances assumed	.142	.716	2.514	8	.036	7.3400	2.9192	.6083	14.0717
	Equal variances not assumed			2.514	7.961	.036	7.3400	2.9192	.6025	14.0775

keterangan

Metode GM : Gelombang mikro
 Metode Std : Standar (SNI7934:2014)



Uji t independen (sig 5 %)
 T-TEST GROUPS=Metode(1 2)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=KadarPb
 /CRITERIA=CI(.95).

T-Test

Notes

Output Created	07-Aug-2016 21:21:20	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in	10
	Working Data File	
Missing Value Handling	Definition of Missing	User defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on the cases with no missing or out-of-range data for any variable in the analysis.
Syntax	T-TEST GROUPS=Metode(1 2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=KadarPb /CRITERIA=CI(.95).	
Resources	Processor Time	00:00:00.015
	Elapsed Time	00:00:00.016

[DataSet0]

Group Statistics

	Metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Kadar Pb	Metode GM	5	1.56000	.054772	.024495
	Metode Std	5	1.32000	.047828	.021389

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kadar Pb	Equal variances assumed	1.018	.342	7.380	8	.000	.240000	.032519	.165011	.314989
	Equal variances not assumed			7.380	7.857	.000	.240000	.032519	.164773	.315227



T-TEST GROUPS=Metode(1 2)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=Recovery Pb
 /CRITERIA=CI(.95).

T-Test

Notes

Output Created	07-Aug-2016 21:24:16	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	10
Missing Value Handling	Definition of Missing	User defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on the cases with no missing or out-of-range data for any variable in the analysis.
Syntax	T-TEST GROUPS=Metode(1 2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=Recovery /CRITERIA=CI(.95).	
Resources	Processor Time	00:00:00.016
	Elapsed Time	00:00:00.008

[DataSet0]

Group Statistics

	Metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Recovery Pb	Metode GM	5	92.632	6.5626	2.9349
	Metode Std	5	85.778	3.3193	1.4844

Independent Samples Test

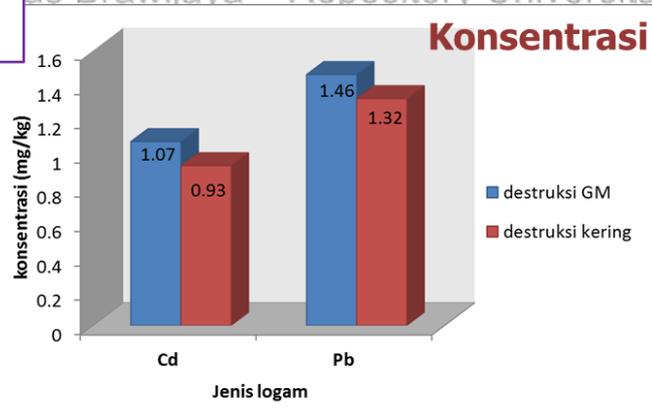
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Recovery	Equal variances assumed	1.758	.221	2.084	8	.071	6.8540	3.2889	-7.303	14.4383
	Equal variances not assumed			2.084	5.921	.083	6.8540	3.2889	-1.2199	14.9279

Keterangan
 Metode GM : Gelombang mikro
 Metode Std : Standar (SN17934:2014)

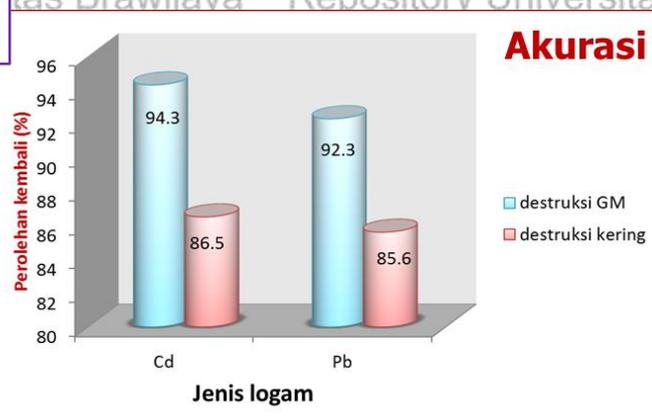


LAMPIRAN 7. Grafik perbandingan metode destruksi gelombang mikro yang dikembangkan dengan metode destruksi kering

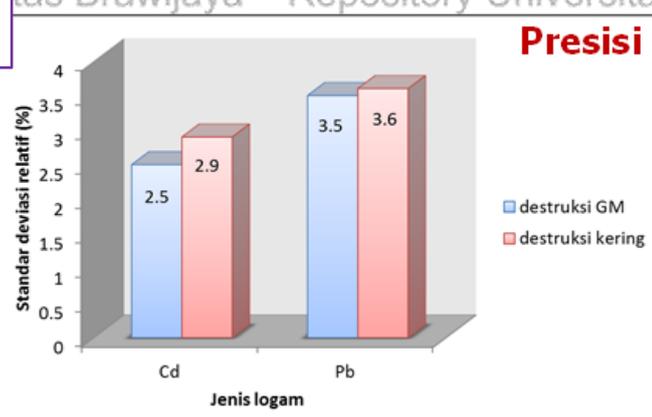
1



2



3





LAMPIRAN 8. Dokumentasi penelitian



Standar Cd dan Pb 1000 ppm



Larutan standar Pb



Larutan standar Cd



Gelombang mikro



cokelat setelah destruksi



Analisa dengan SSA-AA240



Pemanasan cokelat



Pengabuan cokelat dengan tanur 450°C



Abu putih cokelat