VALIDASI METODE PENENTUAN Hg PADA SAMPEL *WASTE WATER TREATMENT PLANT* DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK BEJANA UAP DINGIN-SPEKTROFOTOMETER SERAPAN ATOM (CV-AAS)

VALIDATION OF THE METHODS OF Hg DETERMINATION ON WASTE WATER TREATMENT PLANT SAMPLES USING COLD VAPOUR-ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETER (CV-AAS) TECHNIQUES

Rika Anggraini, Rita Hairani, Aman Sentosa Panggabean*

Program Studi S1 Kimia, FMIPA, Jl. Barong Tongkok Kampus Gn. Kelua, Samarinda, Indonesia

*Corresponding Author : amanspanggabean@yahoo.com

ABSTRACT

The research about validation of the method of Hg determination on the sample from wastewater treatment plant (WWTP) PT. Badak NGL Bontang, Kalimantan Timur using cold vapour-atomic absorption spectrophotometer (CV-AAS) techniques has been conducted. To obtain a valid measurement result, determinations of the important several parameters that influence the method validation are used. The results of research showed that 20% SnCl₂ solution could be used as a reducing agent. The analytic performance of measurement obtain is good, showed with the linearity (r) value ≥ 0.995 , LOD was 0.2530 ppb, LOQ was 0.8432 ppb, MDL was 0.6427 ppb and repeatability and reproducibility are shown as % RSD < 2/3 CV Horwitz values. The accuracy of this method is very good with a percentage of recovery value of 114.88%. Based on the results of this research, CV-AAS method can be used in the determination of Hg in WWTP samples with the valid results.

Keywords: Hg, Method validation, CV-AAS.

PENDAHULUAN

Merkuri (Hg) adalah logam berat yang memiliki efek toksisitas paling tinggi di antara logam berat lainnya. Hg pada lingkungan perairan berbentuk persenyawaan seperti CH₃HgCl, C₂H₅HgCl dan HgCl₂ [1]. Limbah yang terdapat pada perairan umum yang mengandung Hg akan diubah menjadi metil merkuri (CH₃-Hg) akibat adanya aktivitas mikroorganisme yang ada di dalam air sehingga bersifat racun [2]. Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 tentang kualitas air, kadar maksimum Hg pada perairan adalah sebesar 0,005 mg/L dan PerMenLH Nomor 04 Tahun 2007 tentang baku mutu air limbah, kadar maksimum Hg sebesar 0,005 mg/L.

Validasi merupakan pengecekan yang menggunakan bukti-bukti pemeriksaan yang sesuai dengan tujuan pengujian. Validasi harus dilakukan terhadap metode yang belum standar dan metode yang sedang atau telah dikembangkan [3]. Untuk memperoleh suatu metode yang valid diperlukan beberapa parameter yang harus diamati meliputi ketepatan, ketelitian, linieritas, batas deteksi instrumen (IDL), batas deteksi (LOD),

batas kuantitasi (LOQ), dan uji kekuatan metode (*robustness*). Apabila parameter-parameter tersebut memenuhi persyaratan validasi, maka metode analisis yang digunakan dapat dipercaya dan dipertanggungjawabkan kebenaran [4].

Pengembangan dan validasi analisa penentuan kadar Hg telah banyak dilakukan dengan berbagai teknik, salah satunya adalah teknik bejana uap dingin ditandemkan dengan spektrofotometer serapan atom (CV-AAS). Teknik CV-AAS merupakan teknik yang paling banyak digunakan dalam penentuan kadar Hg karena memiliki ketepatan, kepekaan dan tingkat ketelitian yang tinggi [5], serta mampu menganalisis sampel yang memiliki konsentrasi rendah. Teknik ini memungkinkan pemisahan analit tanpa adanya gangguan dari matriks sampel [6]. Pada teknik CV-AAS, ion Hg dalam sampel dianalisis melalui proses hidrida dengan menggunakan reduktor yang sangat kuat seperti SnCl₂ dalam suasana asam yang dapat mereduksi sekitar 95%, sehingga Hg dalam sampel diubah menjadi Hg netral (Hg⁰) berbentuk gas yang selanjutnya akan tereksitasi karena menyerap

sinar yang berasal dari lampu katoda Hg dalam AAS [7] dan dapat ditentukan kadarnya.

Beberapa penelitian tentang penentuan Hg dalam berbagai sampel dengan menggunakan berbagai teknik pengukuran telah banyak dilakukan. Penentuan Hg dalam makanan laut (*seafood*) dengan teknik prakonsentrasi yang ditandemkan secara kontiniu dengan HPLC [8], Hg dalam ikan dengan teknik CV-AAS [9], air tanah dan sungai dengan teknik elektrokimia-CV-AAS [10], dalam berbagai sampel sedimen, tanah, organism perairan [11], spesiasi Hg dengan teknik HPLC-ICP-MS [12], mikro ekstraksi cair-cair yang digabungkan dengan HPLC [13] dan kosmetik [14], melaporkan bahwa hasil yang diperoleh merupakan hasil yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan kebenarannya.

Berdasarkan uraian di atas, maka dalam penelitian ini digunakan metode standar *APHA Ed. 22-2012 3112 B* dengan teknik CV-AAS untuk analisis Hg pada sampel *Waste Water Treatment Plant (WWTP)* di PT. Badak NGL Bontang, Kalimantan Timur. Dari penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan suatu metode tanpa dilakukannya sistem oksidasi dalam penentuan Hg dan optimasi terhadap SnCl_2 (reduktor) serta validasi metode terhadap metode analisis yang dikembangkan.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya, Spektrofotometer AA 240-FS varian lengkap dengan *Vapor Generator Accessory* VGA-76, seperangkat unit komputer, neraca analitik digital, *hot plate*, *beaker glass*, spatula, batang pengaduk, labu takar, pipet mikro, pipet gondok, pipet tetes, *bulp*, dan botol semprot.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya, larutan standar Hg 1000 ppm, HCl, HNO_3 , $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, *aquabidest* dan *aquadest*.

Penentuan Kondisi Optimum Larutan SnCl_2

Dipersiapkan larutan blanko, larutan standar Hg dengan konsentrasi 5, 6 dan 7 ppb dan disiapkan larutan SnCl_2 dengan berbagai konsentrasi yaitu 5%, 10% dan 20%. Kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan VGA-AAS, sehingga didapatkan nilai absorbansi yang paling baik.

Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 10 mL *aquabidest* diambil ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan HNO_3 (1:1). Kemudian ditambahkan sampai tanda tera lalu dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Standar Hg

Sebanyak 0,1 mL larutan standar Hg 1000 ppm diambil, kemudian dimasukan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan *aquabidest* sampai tanda batas, dan diperoleh larutan standar Hg 1 ppm. Larutan standar 1 ppm diambil 0,1 - 0,7 mL dan diencerkan dalam labu ukur 100 mL dengan *aquabidest* sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan standar 1 - 7 ppb.

Persiapan Sampel

Sebanyak 10 mL sampel *Waste Water Treatment Plant (WWTP)* diambil lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan HNO_3 (1:1) dan ditambahkan dengan sampel *WWTP* sampai tanda tera serta dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Spike

Sebanyak 10 mL larutan sampel diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan 2 mL larutan standar merkuri 50 ppb dan ditambahkan dengan larutan sampel sampai tanda tera serta dihomogenkan.

Uji Linearitas

Larutan blanko dan deret standar 1-7 ppb disiapkan. Lalu dilakukan pembacaan blanko dan deret standar dengan menggunakan VGA-AAS. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dan dihitung nilai koefisien korelasinya (r).

Uji Akurasi

Larutan *spike* dan larutan sampel yang sudah dilakukan preparasi sebelumnya disiapkan. Selanjutnya dianalisa dengan menggunakan SSA, serta dicatat nilai absorbansi dan konsentrasi untuk larutan *spike* dan sampel. Pembacaan absorbansi dan konsentrasi pada masing-masing larutan dilakukan sebanyak 10 kali.

Uji Presisi

Larutan sampel yang sudah dipreparasi sebelumnya disiapkan. Pembacaan absorbansi dan konsentrasi pada masing-masing larutan dilakukan sebanyak 10 kali. Hasil yang diperoleh dicatat. Kemudian dengan langkah prosedur yang sama dilakukan pembacaan untuk analisa hari ke-2.

Uji LOD (*Limit of Detection*)

Pada uji LOD dilakukan secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi, dimana respon instrumen y berhubungan linier dengan konsentrasi x . Besar limit deteksi pada umumnya dinyatakan dalam $3Sa/b$, dimana b ialah *slope* dan SD ialah standar deviasi. $LoD = 3 \times SD/b$.

Uji LOQ (*Limit of Quantity*)

Pada uji LOD dilakukan secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi, dimana respon instrumen y berhubungan linier dengan konsentrasi x . besar limit deteksi pada umumnya dinyatakan dalam $10Sa/b$, dimana b ialah *slope* dan SD ialah standar deviasi. $LoQ = 10 \times SD/b$.

MDL (*Method Detection Limit*)

Larutan *spike* untuk uji MDL yang telah dipreparasi sebelumnya disiapkan. Pembacaan absorbansi dan konsentrasi pada masing-masing larutan dilakukan sebanyak 10 kali. Nilai pada hasil pembacaan larutan *spike* dicatat dan dihitung untuk mendapatkan nilai MDL. Berdasarkan Hadi (2010), adapun nilai MDL dapat ditentukan dengan rumus berikut: $MDL = t(0.01; n-1)SD$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Kondisi Optimum Larutan $SnCl_2$

Larutan $SnCl_2$ digunakan sebagai reduktor, untuk mereduksi ion Hg dalam sampel menjadi Hg^0 . Dalam tahapan ini digunakan berbagai variasi konsentrasi $SnCl_2$ dan ion Hg. Kemudian dilakukan pembacaan dengan menggunakan teknik CV-AAS (alat VGA-AAS), sehingga diperoleh nilai absorbansi. Hasil yang memiliki nilai absorbansi paling optimum dari larutan $SnCl_2$ akan digunakan sebagai reduktan dalam penelitian ini. Adapun hasil pengukuran dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Gambar 1. Optimasi Larutan $SnCl_2$

Berdasarkan **Gambar 1** diketahui bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar pula absorbansi yang didapatkan. Dari gambar dapat dilihat bahwa larutan $SnCl_2$ pada konsentrasi 20% mampu memberikan hasil absorbansi yang paling besar dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Untuk pengukuran selanjutnya digunakan larutan $SnCl_2$ dengan konsentrasi 20% sebagai konsentrasi yang optimum.

Linearitas

Untuk memperoleh linearitas pengukuran, dilakukan pengukuran absorbansi larutan seri standar Hg 1-7 ppb. Tujuan dilakukannya pengukuran ini adalah untuk memperoleh persamaan garis regresi dari kurva kalibrasi yang dibuat. Uji linearitas dinyatakan sebagai koefisien korelasi (r) [15]. Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Gambar 2. Penentuan Linearitas Pengukuran Merkuri dengan VGA-AAS

Berdasarkan **Gambar 2**, dapat diketahui persamaan garis linier adalah $Y = 0,0118X - 0,0016$ dengan nilai regresi $R^2 = 0,9989$ dan $r = 0,9994$. Panggabean (2014) menyatakan bahwa sebagai parameter terdapatnya kaitan linear digunakan koefisien (r) pada pengujian regresi linier $y = a + bx$. Persyaratan yang memenuhi kriteria untuk koefisien korelasi ialah sebesar $r \geq 0,990$ [15]. Nilai $r = 0,9994$ menyatakan bahwa hasil data linieritas dinyatakan valid dan terdapat korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi dan absorbansi.

LOD dan LOQ

Untuk uji limit deteksi (LOD) dan limit kuantisasi (LOQ) dilakukan secara statistik menggunakan kurva standar Hg yang telah diperoleh pada uji linearitas sebelumnya.

Penentuan LOD dan LOQ dapat ditentukan dengan kurva kalibrasi [3,16]. Adapun hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji LOD dan LOQ

No	Standar Hg (ppb)	Absorbansi
1	1	0,0090
2	2	0,0210
3	3	0,0334
4	4	0,0459
5	5	0,0577
6	6	0,0679
7	7	0,0814
JUMLAH		0,3162
Standar Deviasi (SD)		0,000991
LOD = 3SD/b		0,2530 ppb
LOQ = 10SD/b		0,8432 ppb

Berdasarkan **Tabel 1.** diperoleh nilai LOD sebesar 0,2530 ppb dan LOQ sebesar 0,8432 ppb. Data ini menunjukkan konsentrasi analit terendah dan kuantitas terkecil yang dapat ditetapkan oleh suatu metode dengan diaplikasikan secara lengkap pada metode yang digunakan dengan kondisi yang disepakati di laboratorium uji [6,17]. Nilai ini menunjukkan bahwa jumlah analit masih dapat terukur oleh VGA-AAS, sehingga untuk analisis Hg dengan menggunakan instrumen VGA-AAS masih mampu terbaca serapannya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai LOD dan LOQ dapat diterima dan dinyatakan valid.

Uji MDL (Method of Detection Limit)

Penentuan MDL dilakukan untuk mengetahui keterbatasan serta kemampuan suatu laboratorium dalam mengaplikasikan pengujian metode tertentu pada kadar analit yang rendah. Untuk perhitungan volume sampel total, volume standar yang dipipet, konsentrasi standar yang dipipet serta konsentrasi target diperoleh melalui perhitungan berdasarkan batas deteksi menurut SNI 6989. 78: 2011. Dari perhitungan diperoleh larutan *spike* MDL, kemudian dilakukan pembacaan dengan menggunakan VGA-AAS sebanyak 10 kali pembacaan. Adapun hasil uji MDL dapat dilihat pada **Tabel 2.**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai MDL sebesar 0,6427 ppb. Dari hasil data analisis selanjutnya nilai MDL akan diperoleh dari tabel t dengan tingkat

kepercayaan sebesar 99% dengan $n=1$, selanjutnya dikalikan dengan besarnya standar deviasi yang diperoleh maka diperoleh nilai $2,821 \times SD$ dan diperoleh 0,6427 ppb sebagai nilai MDL dan data dinyatakan valid.

Uji Akurasi

Akurasi ialah nilai yang menunjukkan derajat kemiripan sebuah hasil analisis dibandingkan dengan keadaan kadar yang sebenarnya dari analit. Akurasi juga dijelaskan sebagai % *recovery* (persen perolehan kembali) dari analit yang dilakukan penambahan di dalamnya. Pada uji akurasi ini dilakukan dengan pengukuran sampel yang telah ditambahkan standar sebanyak 1 mL kemudian dilakukan sebanyak 10 kali pembacaan sampel menggunakan VGA-AAS. Dalam penelitian ini uji akurasi dilakukan dengan mengukur sampel oli lubrikan yang kemudian ditambahkan dengan standar, diperoleh % *recovery* sebesar 114,88%. Hasil akurasi dinyatakan baik apabila diperoleh nilai dengan rentang 40 - 120% [18]. Maka pada penelitian ini hasil uji akurasi masih masuk dalam rentang yang ditetapkan, sehingga data dapat dinyatakan valid.

Presisi

Presisi atau *precision* ialah derajat kemiripan antara hasil uji individual yang diukur dengan penyebaran hasil individual berdasarkan rata-rata bila prosedur dilakukan secara berulang terhadap sampel yang diperoleh dari campuran yang telah homogen. presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variansi). *Precision* dapat dinyatakan sebagai *repeatability* (keterulangan) atau *reproducibility* (kebolehulangan) [19]. Untuk uji presisi pada penelitian ini dilakukan pembacaan sampel sebanyak 10 kali pengulangan menggunakan VGA-AAS.

Hasil presisi dinyatakan baik apabila nilai % $RSD \leq 2/3$ CV Horwitz [18]. Hasil uji presisi menunjukkan bahwa % RSD pada analisa hari 1 yaitu 1,1927 lebih kecil dari $2/3$ CV Horwitz yaitu 4,4701 ($1,1927 \leq 4,4701$) dan pada analisa hari 2 yaitu 1,0531 lebih kecil dari $2/3$ CV Horwitz yaitu 4,4991 ($1,0531 \leq 4,4991$). Sedangkan pada reproduktibilitas diperoleh % RSD yaitu 1,1184 lebih kecil dari $2/3$ CV Horwitz yaitu 4,4991 ($1,1184 \leq 4,4991$). Setelah dilakukan perhitungan secara statistik, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada uji presisi pada penelitian ini baik parameter repetibilitas maupun reproduktibilitas semua hasil % $RSD \leq 2/3$ CV Horwitz, sehingga dapat disimpulkan bahwa data

yang diperoleh memiliki nilai presisi yang baik dan data dapat dinyatakan valid.

Tabel 2. Hasil Uji MDL

Ulangan	Konsentrasi Sampel (ppb)	Konsentrasi sampel + Spike (ppb)	Konsentrasi terukur(ppb)
1	0,1761	1,1874	1,0113
2	0,1758	1,4644	1,2886
3	0,1732	1,1948	1,0216
4	0,1454	1,0685	0,9231
5	0,1365	0,9474	0,8110
6	0,1094	1,6400	1,5306
7	0,1244	1,3397	1,2153
8	0,1392	1,5904	1,4512
9	0,1236	1,2853	1,1617
10	0,1391	1,2124	1,0733
Rata-rata			1,1488
StandarDeviasi (SD)			0,2278
MDL = 2.821xSD			0,6427
Signal/noise (S/N) = rata2/SD			5,0421
% RSD			19,83

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan serta hasil data yang diperoleh dapat dinyatakan bahwa metode analisis pada penentuan Hg dalam sampel *WWTP* pada PT. Badak NGL Bontang, Kalimantan Timur dengan menggunakan teknik bejana uap dingin spektrofotometer serapan atom (*CV-AAS*), menunjukkan semua data yang diperoleh memenuhi syarat keberterimaan dengan parameter uji yang dilakukan, sehingga data dinyatakan valid dan dapat digunakan untuk analisa rutin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Pimpinan dan Staf PT. Badak NGL Bontang, Kalimantan Timur untuk fasilitas laboratorium dan sampel yang disediakan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Palar. (1994). *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- [2] Budiono, A. (2003). *Pengaruh Pencemaran Merkuri Terhadap Biota Air*. Makalah pengantar Falsafah Sains Institut Pertanian Bogor.
- [3] Riyanto. (2014). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.
- [4] Taufiq, M., Sabarudin. A., dan Mulyasuryani, A. (2016). Pengembangan dan Validasi Metode Destruksi Gelombang

Mikro untuk Penentuan Logam Berat Kadmium dan Timbal dalam Cokelat dengan Spektroskopi Serapan Atom (SSA), 2, pp. 31–37.

- [5] Dean J. R. (1997). *Atomic Absorption and Plasma Spectroscopy*. Published on behalf of ACOL (University of Greenwich), Chichester, England, Hal. 59.
- [6] Panggabean, A. S, Pasaribu, S. P, and Kristiana, F. (2018). The Utilization of Nitrogen Gas as a Carrier Gas in Determination of Hg Ions Using Cold Vapor-ATOMIC Absorption Spectrophotometer (CV-AAS). *Indones. J. Chem.* 18 (2). 279-285.
- [7] Susanna, T. S. (2007). *Unjuk Kerja Metode Uji Total Merkuri (Hg) Dalam Contoh Bahan Biologis Menggunakan CV-AAS*. Yogyakarta: Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan.
- [8] Dong, L., Yan, X., Li, Y., Jiang, Y., Wang, S., Jiang, D. (2004). On-Line Coupling Of Flow Injection Displacement Sorption Preconcentration to High-Performance Liquid Chromatography for Speciation Analysis Of Mercury in Seafood, *J. of Chrom. A.* 1036. 119-125.
- [9] Silva M. F., Tóthi. V, and Rangel A. O. S. S. (2006). Determination of Mercury in Fish by Cold Vapour Atomic Absorption Spectrophotometry Using a Multicommuted Flow Injection Analysis System Vol .

22. *Anal. Sci.*, The Japan Society for Analytical Chemistry.
- [10] Arbab-Zavar, M., Mahmoud, H., Chamsaz, G.H., and Masrournia, M. (2003). Determination of Mercury(II) Ion by Electrochemical Cold Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Sci.* 19(5). 743-746
- [11] Tomiyasu, T., Nagano, A., Sakamoto, H., and Yonehara, N. (1996). Differential Determination of Organic Mercury and Inorganic Mercury in sediment, soil and aquatic organism by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Sci.* 12. 477-481.
- [12] Zhu, S., Chen, B., He, M., Huang, T., and Hu, B. (2017). Speciation of mercury in water and fish samples by HPLC-ICP-MS after magnetic solid phase extraction, *Talanta*, 171. 213-219.
- [13] Gao, Z., and Ma, X. (2011). Speciation analysis of mercury in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid Chromatography, *Anal. Chim. Acta.* 702(1). 50-55.
- [14] Fithriani, A., Zulharmita., dan Dinda, R.F. (2013). Identifikasi dan Penetapan Kadar Merkuri Dalam Krim Pemutih Kosmetika Herbal Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi.* 18. 28-34.
- [15] Harmita. (2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi*, I(3), pp. 117-135.
- [16] Panggabean, A. S., Pasaribu, S., Bohari and Nurhasanah. (2014). Preconcentration of Chromium (VI) at Trace Levels Using Acid Alumina Resin With Column Method, *Indones. J. Chem. Sci.*, Vol. 14, no. 1, pp. 51-56
- [17] Panggabean, A.S., Pasaribu, S.P., Amran, M.B., and Buchari. (2013). Gas-liquid separator integrated to HG-QFAAS method for determination of tin at trace levels in the water samples. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry.* 8(1). pp. 17-27
- [18] Harvey, D. (2000). *Modern Analytical Chemistry*. Amerika Serikat (US): McGraw-Hill.
- [19] Panggabean, A. S and Yusuf, B. (2015). Determination of Chromium (VI) By Using Chitosan-1,5-Diphenyl Carbazide Resin Modified at The Preconcentration System With Column Method. *Int. J. Pharma and Bio Sci.* pp. 101-111, 2015.