



**VALIDASI METODE ANALISIS LOGAM BERAT TIMBAL  
(Pb), KADMIUM (Cd), DAN MERKURI (Hg) PADA PAKAN  
IKAN DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN  
ATOM**

**PROPOSAL SKRIPSI**

**Disusun oleh:**

**Nama : Siti Umamah  
NIM : 614190005**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS, FARMASI DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MATHLA'UL ANWAR  
BANTEN  
2023**

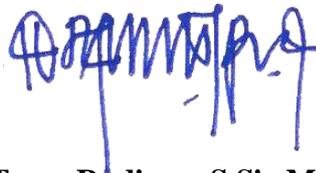
## LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Setelah membaca naskah proposal skripsi ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami, telah memenuhi persyaratan ilmiah sebagai suatu proposal skripsi dan layak untuk diseminarkan.

Pandeglang, 27 Januari 2023

Mengetahui dan menyetujui:

Pembimbing Utama



**Tarso Rudiana, S.Si., M.Si**  
**NIDN. 0425028704**

Pembimbing Pendamping



**Sofian Ansori, S.Si., M.Si**  
**NIP. 199101042015031001**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**VALIDASI METODE ANALISIS LOGAM BERAT TIMBAL (Pb),  
KADMIUM (Cd), DAN MERKURI (Hg) PADA PAKAN IKAN DENGAN  
METODE SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

**Nama : Siti Umamah**

**NIM : 614190005**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal .....

**Susunan Dewan Penguji**

Ketua Sidang	:	_____	_____
Pembimbing Utama	:	<u>Tarso Rudiana, S.Si., M.Si</u>	_____
Pembimbing Pendamping	:	<u>Sofian Ansori, S.Si., M.Si</u>	_____
Ketua Penguji	:	<u>Nani Suryani, S.Si., M.Si</u>	_____
Anggota Penguji	:	<u>Ghina Siti Nurhayati, S.Si., M.Si</u>	_____

Ketua Program Studi Kimia

**Agus Setiawan, S.Si., M.Si**

NIK. 104103200483

Mengetahui,

Dekan

**Lambang Satria Himmawan, S.KM., M.KM**

NIK. 104103200423

## ABSTRAK

Pakan ikan merupakan faktor utama yang membantu ikan tumbuh dan bertahan hidup. Pakan ikan dapat terkontaminasi logam berat seperti timbal (Pb), kadmium (Cd), dan merkuri (Hg) karena bahan bakunya yang tercemar oleh logam berat yang berasal dari alam ataupun selama proses pembuatan (kontaminasi dari alat). Pakan ikan yang mengandung logam berat dapat berdampak negatif bagi kesehatan ikan maupun manusia yang mengkonsumsinya. Validasi metode analisis logam berat dalam pakan ikan penting dilakukan untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan dapat menghasilkan data yang akurat dan dapat diandalkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil validasi metode analisis logam berat Pb, Cd dan Hg pada pakan ikan yang meliputi linearitas, akurasi, presisi, LoD dan LoQ serta menentukan nilai estimasi ketidakpastian. Sampel pakan ikan didestruksi basah menggunakan *microwave digestion* dan diukur dengan *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometri* (GF-AAS) untuk Pb dan Cd, sedangkan untuk Hg diukur dengan *Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometri* (CV-AAS).

Kata Kunci : CV-AAS, GF-AAS, Pakan ikan, Validasi

## **ABSTRACT**

Fish feed is the main factor that helps fish grow and survive. Fish feed can be contaminated with heavy metals such as lead (Pb), cadmium (Cd), and mercury (Hg) because the raw materials are contaminated with heavy metals originating from nature or during the manufacturing process (contamination from tools). Fish feed containing heavy metals can have a negative impact on the health of fish and humans who consume it. Validation of heavy metal analysis methods in fish feed is important to ensure that the analytical methods used can produce accurate and reliable data. The purpose of this study was to determine the validation results of the analysis method for heavy metals Pb, Cd and Hg in fish feed which included linearity, accuracy, precision, LoD and LoQ and to determine the estimated value of uncertainty. Fish feed samples were wet digested using microwave digestion and measured by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry (GF-AAS) for Pb and Cd, while for Hg it was measured by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry (CV-AAS)

Keywords : CV-AAS, GF-AAS, Fish feed, Validation

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal skripsi dengan judul **“Validasi Metode Analisis Logam Berat Timbal (Pb), Kadmium (Cd), dan Merkuri (Hg) pada Pakan Ikan dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom”**. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada junjungan alam yakni Nabi Muhammad SAW, kepada keluarga, sahabat, serta kita sebagai umatnya semoga diberikan syafaatnya, Aamiin.

Penyusunan proposal skripsi sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Kimia (S.Si) di Program Studi Kimia Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan Universitas Mathla'ul Anwar Banten. Selama menyusun proposal skripsi ini, penulis mengalami kesulitan dan hambatan, baik suka maupun duka, namun dengan adanya bantuan, dorongan dan bimbingan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi dengan baik. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Lambang Satria Himmawan, S.KM., M.KM selaku Dekan Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan.
2. drh. Toha Tusihadi selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memfasilitasi penelitian.
3. Agus Setiawan, S.Si., M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan.
4. Tarso Rudiana, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah sabar memberikan masukan dan arahan dalam menyelesaikan proposal skripsi ini.
5. Sofian Ansori, S.Si., M.Si selaku Pembimbing Pendamping yang telah sabar membimbing dan memberikan arahan dalam menyelesaikan proposal skripsi ini.
6. Nani Suryani, S.Si., M.Si selaku Ketua Penguji yang telah memberikan arahan dalam menyelesaikan proposal skripsi ini.

7. Ghina Siti Nurhayati, S.Si., M.Si selaku Anggota Penguji yang telah memberikan arahan dalam menyelesaikan proposal skripsi ini.
8. Kedua orang tua dan keluarga tercinta yang telah tulus memberikan motivasi baik dari segi materil serta moril selama kuliah sampai penyusunan proposal skripsi ini.
9. Seluruh Dosen dan Staf Tata Usaha Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan.
10. Seluruh Analis dan Pegawai Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang.
11. Mahasiswa Prodi Kimia dan Biologi yang mengikuti kegiatan magang merdeka belajar kampus merdeka (MBKM) yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan proposal skripsi ini.

Penulis berharap semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan memberi sumbangan bagi dunia ilmu pengetahuan juga menambah motivasi untuk meneliti lebih lanjut.

Pandeglang, 24 Januari 2023

Penulis

Siti Umamah  
614190005

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Teori.....	7
2.1.1 Logam Berat .....	7
2.1.2 Timbal (Pb).....	8
2.1.3 Kadmium (Cd).....	9
2.1.4 Merkuri (Hg).....	10
2.1.5 Pakan Ikan .....	11
2.1.6 Validasi Metode.....	13
2.1.7 Estimasi Ketidakpastian .....	19
2.1.8 Destruksi.....	21
2.1.9 Spektrofotometri Serapan Atom .....	22
2.2 Kerangka Pemikiran .....	28
2.3 Hipotesis.....	29
2.4 Penelitian Relevan .....	29
BAB III METODE PENELITIAN .....	31

3.1	Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.2	Alat dan Bahan Penelitian.....	31
3.3	Prosedur Kerja .....	32
3.3.1	Preparasi Sampel.....	32
3.3.2	Destruksi Basah Menggunakan <i>Microwave Digestion</i> .....	32
3.3.3	Pembacaan Kurva Kalibrasi dan Sampel pada AAS.....	32
3.4	Prosedur Validasi.....	33
3.4.1	Linearitas .....	33
3.4.2	Akurasi dan Presisi.....	33
3.4.3	Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantitasi (LoQ).....	33
3.5	Diagram Alir Penelitian .....	34
3.5.1	Preparasi Sampel.....	34
3.5.2	Destruksi Sampel .....	34
3.5.3	Pembacaan Kurva Kalibrasi dan Sampel pada AAS.....	35
3.5.4	Linearitas .....	35
3.5.5	Akurasi dan Presisi.....	36
3.5.6	Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantitasi (LoQ).....	36
	DAFTAR PUSTAKA .....	37

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kebutuhan nutrisi beberapa jenis ikan.....	13
2.2 Akurasi yang diharapkan sebagai fungsi konsentrasi analit.....	17
2.3 Presisi yang diharapkan sebagai fungsi konsentrasi analit.....	19
2.4 Penelitian relevan.....	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Ilustrasi teknik FAAS .....	24
2.2 Ilustrasi teknik GF-AAS.....	24
2.3 Kerangka pikiran.....	28
3.1 Diagram alir preparasi sampel .....	34
3.2 Diagram alir destruksi sampel.....	34
3.3 Diagram alir pembacaan kurva kalibrasi dan sampel pada AAS .....	35
3.4 Diagram alir linearitas .....	35
3.5 Diagram alir akurasi dan presisi.....	36
3.6 Diagram alir limit deteksi (LoD) dan limit kuantitasi (LoQ).....	36

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Konsumsi ikan air tawar selalu diminati setiap tahunnya. Hal ini menjadi daya tarik bagi pengembangan budidaya ikan air tawar. Faktor utama yang membantu ikan tumbuh dan bertahan hidup adalah makanan. Ketersediaan pakan yang cukup secara kuantitas dan kualitas untuk mendukung produksi yang maksimal sangat mempengaruhi upaya pengembangan budidaya (Kusnadi, 2014). Pakan ikan dapat terkontaminasi logam berat karena bahan bakunya yang tercemar oleh logam berat yang berasal dari alam meliputi air, tanah dan udara karena meningkatnya aktivitas manusia yang menimbulkan pencemaran ataupun selama proses pembuatan (kontaminasi dari mesin/alat yang digunakan) seperti mixer, penggiling, ekstruder, dan oven yang digunakan dalam pembuatan pakan ikan biasanya berasal dari bahan logam yang jika tidak di jaga dengan baik, maka ada kemungkinan logam dapat bocor dari alat tersebut dan terkontaminasi dalam pakan.

Bahan baku pakan ikan yang biasa digunakan adalah tepung ikan. Tepung ikan dapat tercemar logam berat karena ikan yang digunakan untuk bahan baku pakan diperoleh dari lingkungan perairan laut maupun perairan lain (Dwiloka dkk, 2012) yang berdasarkan penelitian terhadap sampel ikan komersial dan produk makanan laut di Bosnia dan Herzegovina mengandung logam Pb, Cd dan Hg (Djedjibegovic *et al.*, 2020), sampel ikan air tawar mengandung logam Pb dan Cd

(Ramdanawati dkk., 2017), dan beberapa jenis ikan di perairan sungai Batang Toru, Aek Pahu Tombak dan Aek Pahu Hutamosu mengandung logam Pb, Cd, Cu, Hg dan Zn karena logam berat yang mencemari lingkungan sebagian besar disebarkan melalui jalur air (Sirait dkk., 2013). Logam timbal dan kadmium ditemukan dalam tepung ikan dengan konsentrasi masing-masing 0,30 mg/kg sedangkan kadmium pada bungkil kedelai, bungkil kacang tanah, jagung dan kue kedelai berturut-turut adalah 0,01; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/kg (Adeniji & Okedeyi, 2017). Analisis logam berat pada lima tepung ikan yang tersedia di Barat Daya Nigeria dilakukan oleh Bernard & Adetola (2022) diperoleh konsentrasi Cd, Pb, Hg, Cu, Zn dan Cr berkisar antara 0,003-0,082; 0,00-0,002; 0,0016-0,0061; 0,291-1,059; 1,02-2,534 dan 0,001-0,015 mg/kg.

Sabbir *et al* (2018) melaporkan kandungan kadmium dalam pakan ikan yaitu 0,29 mg/kg, sedangkan kandungan timbal dalam pakan ikan adalah 8,49 mg/kg yang berada jauh diatas batas maksimum yang telah ditetapkan. Anhwange *et al* (2012) juga melakukan analisis logam pada dua pakan ikan sintetik (pakan multi dan copen) dimana untuk pakan multi mengandung Cd (30,00 µg/kg), Cu (157,00 µg/kg), Fe (2196,00 µg/kg), Ni (92,00 µg/kg), Pb (348,00 µg/kg) dan Zn (1209,00 µg/kg); sedangkan pakan Copen mengandung Cd (20,00 µg/kg), Cu (204,00 µg/kg), Fe (2435,00 µg/kg), Ni (8,00 µg/kg), Pb (375,00 µg/kg) dan Zn (3324,00 µg/kg). Sarkar *et al* (2022) juga melakukan analisis logam seperti timbal (Pb), kadmium (Cd), kromium (Cr), tembaga (Cu), dan seng (Zn) pada sampel pakan ikan diperoleh kandungan berturut-turut adalah 0,189; 0,027; 1,023; 0,303; dan 1,468 mg/kg.

Logam berat merupakan salah satu bahan pencemar yang perlu mendapat perhatian khusus karena sifatnya yang sulit terdegradasi, sehingga mudah terakumulasi ke dalam lingkungan dan organisme perairan (Sirait dkk., 2013). Logam berat merupakan bahan pencemar yang berbahaya karena bersifat toksik jika terdapat dalam jumlah besar (Azizah & Maslahat, 2021). Pakan ikan yang mengandung logam berat dapat berdampak negatif bagi kesehatan ikan dan manusia yang mengkonsumsinya. Menurut Sirait dkk (2013) apabila suatu logam terakumulasi pada jaringan hewan dan tumbuhan yang kemudian dikonsumsi manusia tentunya manusia sebagai rantai makanan tertinggi pada piramida makanan, maka dalam tubuhnya akan terakumulasi logam berat tersebut. Peristiwa ini biasanya dinamakan pembesaran biologi (*biology magnification*). Berdasarkan SNI 9043-2 (2022) disebutkan bahwa batas maksimum logam timbal, kadmium dan merkuri dalam pakan berturut-turut yaitu 5; 1; dan 0,5 mg/kg, sedangkan dalam SNI 7387 (2009) disebutkan bahwa batas maksimum logam berat timbal, kadmium dan merkuri dalam ikan berturut-turut 0,3; 0,1; dan 0,5 mg/kg dan *provisional tolerable weekly intake* (PTWI) berturut-turut 0,025; 0,007; dan 0,005 (merkuri total); 0,0016 (metil merkuri) mg/kg berat badan.

Logam berat dalam jangka panjang memiliki efek toksik yang dapat menghambat kerja enzim sehingga mengganggu metabolisme tubuh, menyebabkan alergi, bersifat mutagenik, teratogenik, atau karsinogenik, bahkan dapat membunuh makhluk hidup (Kuntoro dkk., 2012). Kerja logam berat menghambat enzim biasanya terjadi akibat adanya interaksi logam berat dengan gugus sulfida seperti disulfida (-S-S) dan sulfhidril (-SH) pada enzim tersebut.

Gugus sulfida mampu mengikat logam berat yang masuk ke dalam tubuh dan terikat di dalam darah, karena logam berat memiliki afinitas yang tinggi terhadap gugus sulfida (Adhani & Husaini, 2017). Sangatlah penting untuk memastikan bahwa pakan ikan aman dan bebas dari kontaminasi logam berat, sehingga kadarnya perlu diukur secara valid.

Berdasarkan SNI ISO/IEC 17025 (2017) setiap metode pengembangan harus dilakukan validasi metode, metode yang digunakan bisa metode standar, metode standar yang dimodifikasi, metode tidak standar, atau metode yang dikembangkan sendiri. Validasi metode adalah proses mengevaluasi parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk menunjukkan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan penggunaannya (Harmita, 2004). Validasi metode merupakan hal penting yang perlu dilakukan untuk memastikan kualitas hasil analitik yang dihasilkan setiap laboratorium yang disetujui sebagai pengawasan resmi (Ullah *et al.*, 2017) karena validasi merupakan pengendalian mutu suatu metode pengujian. Menurut Association of Official Analytical Chemist (2016) parameter proses validasi meliputi linearitas, akurasi, presisi, uji batas deteksi (LoD), dan batas kuantitasi (LoQ).

Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah Spektrofotometri serapan atom atau yang biasa dikenal dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) yang merupakan salah satu metode yang biasa digunakan untuk analisis unsur-unsur logam yang pelaksanaannya relatif sederhana dan mempunyai sensitivitas yang tinggi (Sholikha dkk., 2021), dimana sebelum dianalisis sampel didestruksi terlebih dahulu menggunakan metode destruksi

basah tertutup atau disebut juga *microwave digestion*. Dibandingkan dengan destruksi basah terbuka yang membutuhkan waktu lebih lama (lebih dari 24 jam), metode ini memiliki kelebihan yaitu tidak kehilangan unsur volatil dan proses pengerjaan cukup singkat (Rodiana dkk., 2013).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana hasil validasi metode yang meliputi linearitas, akurasi, presisi, dan batas deteksi metode pada analisis logam berat timbal, kadmium, dan merkuri pada sampel pakan ikan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom?
2. Berapa nilai estimasi ketidakpastian pengukuran dalam analisis logam berat timbal, kadmium, dan merkuri pada pakan ikan dengan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui hasil validasi metode yang meliputi linearitas, akurasi, presisi, dan batas deteksi metode pada analisis logam berat timbal, kadmium, dan merkuri pada sampel pakan ikan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom.
2. Menentukan nilai estimasi ketidakpastian pengukuran dalam analisis logam berat timbal, kadmium dan merkuri pada pakan ikan dengan metode spektrofotometri serapan atom.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengkonfirmasi atau membuktikan bahwa metode yang digunakan dalam suatu pengujian memenuhi persyaratan sehingga dapat dinyatakan bahwa data yang diperoleh selama pengujian merupakan hasil yang baik dan dapat dipercaya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Teori**

##### **2.1.1 Logam Berat**

Logam berat adalah unsur-unsur kimia dengan bobot jenis lebih besar dari 5 gr/cm<sup>3</sup> dan memiliki nomor atom antara 22 sampai 92. Terdapat 80 dari 109 unsur kimia di muka bumi ini yang telah teridentifikasi sebagai jenis logam berat. Beberapa logam berat yang berbahaya dan sering mencemari lingkungan adalah merkuri (Hg), timbal (Pb), arsen (As), kadmium (Cd), krom (Cr), dan nikel (Ni) (Sasongko dkk., 2017). Logam berat mempunyai sifat yang sulit didegradasi, mudah larut di dalam air, terendap di dalam sedimen dan dapat terakumulasi dalam tubuh biota perairan (Ratnawati dkk., 2019). Potensi bahaya logam berat adalah ketika logam berat tersebut masuk ke dalam sistem metabolisme dari suatu organisme, khususnya manusia (Kurniawan & Mustikasari, 2019).

Logam berat dapat masuk dalam tubuh manusia baik melalui kulit, pernapasan maupun melalui makanan. Logam berat dapat berasal dari berbagai sumber seperti pada industri pengolahan bijih logam, industri pestisida, industri pertambangan, industri pelapisan logam dan proses penghilangan cat (*paint Stripping*) (Khairuddin dkk., 2019). Logam berat menjadi berbahaya disebabkan proses bioakumulasi. Bioakumulasi berarti peningkatan konsentrasi unsur kimia tersebut dalam tubuh makhluk hidup sesuai piramida makanan. Logam berat dapat terakumulasi melalui rantai makanan, semakin tinggi tingkatan rantai makanan yang ditempati oleh suatu organisme, akumulasi logam berat di dalam tubuhnya

juga semakin bertambah (Hananingtyas, 2017).

### 2.1.2 Timbal (Pb)

Timbal adalah logam berkilau yang berwarna putih kebiruan atau kelabu keperakan. Logam ini memiliki nomor atom 82, berat atom 207,20 g/mol, titik leleh 327 °C, dan titik didih 1755 °C. Timbal secara alami ditemukan pada tanah, serta bersifat tidak berbau dan tidak berasa. Timbal dapat bereaksi dengan senyawa-senyawa lain membentuk berbagai senyawa timbal, seperti timbal oksida (PbO), timbal klorida (PbCl<sub>2</sub>) dan lain-lain. Timbal banyak digunakan dalam pembuatan gelas, cat minyak, penstabil senyawa-senyawa PVC, zat pengoksidasi, bahan bakar, dan pestisida (SNI 7387, 2009). Timbal juga digunakan untuk produk-produk logam seperti pelapis kabel, pipa, solder, dan amunisi. Timbal juga bermanfaat sebagai campuran dalam pembuatan pelapis keramik yang disebut glasir (silika) dengan oksida lainnya. Komponen timbal (PbO) ditambahkan pada proses pembuatan glasir untuk membentuk sifat yang mengkilap (Sihite, 2015).

Timbal dalam tubuh manusia bisa menghambat aktivitas enzim yang terlibat di dalam pembentukan hemoglobin dan sebagian kecil Pb diekskresikan lewat urin atau feses karena sebagian terikat oleh protein, sedangkan sebagian lagi terakumulasi dalam ginjal, hati, kuku, jaringan lemak dan rambut. Waktu paruh timbal dalam eritrosit adalah selama 35 hari, dalam jaringan ginjal 40 hari, sedangkan pada tulang selama 30 hari (Sirait dkk., 2013).

Dampak timbal bagi tubuh manusia sangat banyak terutama pada ibu hamil apabila terkontaminasi timbal akan melahirkan anak yang akan mengalami gangguan pada fase awal pertumbuhan fisik dan mental dan kemudian berakibat

pada fungsi kecerdasan. Timbal dalam jangka panjang dapat terakumulasi pada gigi, tulang, dan gusi. Timbal jika konsentrasinya bertambah akan menyebabkan anemia dan kerusakan fungsi otak serta kegagalan fungsi ginjal (Nuraini dkk., 2015).

### **2.1.3 Kadmium (Cd)**

Kadmium memiliki nomor atom 48, berat atom 112,41 g/mol, berat jenis 8,642 g/cm<sup>3</sup> pada suhu 20 °C, titik leleh 320,9 °C, titik didih 767 °C, dan tekanan uap 0,013 Pa pada suhu 180 °C. Kadmium merupakan logam alami yang ada di dalam kerak bumi. Kadmium yang murni berbentuk logam lunak berwarna putih perak, akan tetapi kadmium murni sampai saat ini belum ditemukan. Kadmium yang ada saat ini biasa ditemukan sebagai mineral yang terikat dengan unsur lain seperti oksigen, sulfur, dan klorin. Kadmium tidak memiliki rasa maupun aroma spesifik. Kadmium digunakan dalam industri sebagai bahan dalam pembuatan baterai, pigmen, pelapisan logam dan plastik (SNI 7387, 2009).

Kadmium merupakan komponen campuran logam yang memiliki titik lebur rendah. Logam Cd biasa digunakan dalam aplikasi sepuhan listrik (*electroplating*). Kadmium metalik kebanyakan telah digunakan sebagai suatu agen anti-korosif. Kadmium juga digunakan pada baterai isi ulang, pada produksi logam campur dan pada asap tembakau. Tiga per empat kadmium berfungsi sebagai komponen elektroda di baterai alkalin, selebihnya digunakan pada penyalutan, pigmen, pelapisan dan sebagai penstabil plastik. Senyawa kadmium digunakan dalam fosfor tabung TV hitam-putih dan fosfor hijau dalam TV berwarna (Jaishankar *et al.*, 2014).

Tubuh manusia tidak memerlukan kadmium dalam fungsi pertumbuhannya, karena kadmium merupakan logam yang sangat beracun bagi manusia. Keracunan akut karena kadmium akan menyebabkan gejala gasterointestinal dan penyakit ginjal. Gejala keracunan kadmium sangat mirip dengan penyakit glomerulonephritis, pada fase lanjut dari keracunan kadmium ditemukan pelunakan dan patah pada tulang punggung. Gejala yang muncul adalah sakit pinggang, patah tulang, tekanan darah tinggi, gejala influenza, dan kerusakan ginjal (Said, 2010).

#### **2.1.4 Merkuri (Hg)**

Merkuri atau air raksa memiliki nomor atom 80, berat atom 200,59 g/mol, berat jenis 13,55 g/cm<sup>3</sup>, titik leleh -38,90 °C, titik didih 357,30 °C, tekanan uap 163x10<sup>-3</sup> Pa, kelarutan dalam air 60 µg/L pada suhu 20 °C, dan 250 µg/L pada suhu 50 °C dengan faktor konversi 1 mg/kg sama dengan 8,34 mg/m<sup>3</sup> serta 1 mg/m<sup>3</sup> sama dengan 0,12 mg/kg. Merkuri adalah satu-satunya logam berbentuk cairan pada temperatur normal. Merkuri disebut sebagai *quicksilver*. Logam ini berwarna putih keperakan, mengkilat dan mudah menguap pada suhu ruangan (SNI 7387, 2009).

Semua bentuk merkuri, baik dalam bentuk unsur, gas maupun dalam bentuk garam merkuri organik bersifat racun. Merkuri dapat terakumulasi di lingkungan dan dapat meracuni hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Keasaman permukaan air dapat mempengaruhi kandungan merkuri secara signifikan. Merkuri jika telah mencapai permukaan air atau tanah akan bersenyawa dengan karbon membentuk senyawa Hg organik oleh

mikroorganisme (bakteri) di air dan tanah. Senyawa Hg organik yang paling umum adalah metil merkuri ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  dan  $\text{CH}_3\text{-Hg-CH}_3$ ), suatu zat yang dapat diserap oleh sebagian besar organisme dengan cepat dan diketahui berpotensi menyebabkan toksisitas terhadap sistem saraf pusat (Hadi, 2013).

Keracunan merkuri dapat menyebabkan gejala parestesias dan mati rasa atau kebas di kaki dan tangan, kesulitan koordinasi dan penyempitan konsentris dari penglihatan serta gejala gangguan pendengaran dapat terjadi. Gejala lain dari keracunan merkuri organik adalah depresi, masalah ingatan, kejang, fatigue, sakit kepala dan rambut rontok. Dosis tinggi merkuri dapat menyebabkan kematian, biasanya 2 hingga 4 minggu setelah munculnya gejala (Jaishankar *et al.*, 2014).

#### **2.1.5 Pakan Ikan**

Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan ditopang oleh pakan (Kusnadi, 2014). Berdasarkan Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor 55 Tahun 2018 pakan ikan dibagi menjadi dua jenis yaitu pakan alami dan pakan buatan. Pakan ikan alami adalah organisme hidup atau mati baik tumbuhan maupun hewan yang dapat dikonsumsi oleh ikan, sedangkan pakan ikan buatan adalah pakan ikan yang terbuat dari kombinasi beberapa bahan baku pakan yang dibuat melalui proses sehingga dapat dikonsumsi oleh ikan.

Menurut Sary (2019) secara umum terdapat empat kelompok bahan baku pakan ikan diantaranya adalah:

- a. Bahan baku hewani seperti tepung ikan, tepung bekicot, tepung rebon, tepung kepala udang, tepung tulang, tepung darah, dan sebagainya digunakan dalam produksi pakan. Selain merupakan sumber protein yang mudah dicerna, bahan

baku hewani ini mengandung asam amino yang lebih lengkap dibandingkan bahan baku nabati.

- b. Bahan baku nabati merupakan bahan baku pakan ikan yang diperoleh dan berasal dari tumbuhan, contohnya adalah tepung kedelai, tepung jagung, dedak, tepung terigu, dan lain-lain. Karbohidrat, protein, dan vitamin biasanya ditemukan dalam bahan nabati.
- c. Tepung darah, tepung kepala udang, bungkil kelapa, ampas tahu, dan dedak halus adalah contoh bahan baku yang berasal dari limbah pertanian, baik hewani maupun nabati.
- d. Aditif atau bahan tambahan adalah zat seperti vitamin, mineral, antioksidan, dan perekat yang ditambahkan ke dalam pakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi yang tidak dapat dipenuhi oleh bahan baku pakan. Aditif juga membantu meningkatkan metabolisme ikan dan proses pencernaan, merangsang nafsu makan atau memberikan aroma pakan, dan memperbaiki tekstur pakan.

Pemilihan formulasi pakan ikan harus memenuhi persyaratan minimal yang dibutuhkan oleh ikan, karena dapat mempercepat pertumbuhan, memperpendek masa pemeliharaan, dan memperkecil resiko kematian (Yunaidi dkk., 2019). Adapun persyaratan minimal nutrisi yang diberikan pada beberapa jenis ikan air tawar adalah seperti terlihat pada tabel 2.1

**Tabel 2.1 Kebutuhan nutrisi beberapa jenis ikan (Yunaidi dkk., 2019)**

No	Jenis ikan	Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)
1	Lele	30-35	5-15	30-40
2	Mas	25-27	5-15	30-40
3	Nila	20-25	8-17	25-35
4	Patin	20-25	8-17	25-35
5	Gurame	25-27	4-12	20-30

### 2.1.6 Validasi Metode

Metode laboratorium kimia analitik harus dievaluasi dan diuji untuk memastikan kesesuaiannya dengan tugas yang dihadapi (Riyanto, 2014). Validasi metode analitik adalah proses mengevaluasi parameter tertentu berdasarkan eksperimen laboratorium untuk menunjukkan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Berdasarkan SNI ISO/IEC 17025 (2017) disebutkan bahwa prosedur validasi adalah langkah penting yang harus diambil untuk memverifikasi melalui pengujian dan menunjukkan dengan data objektif. Hal ini untuk memberi tahu bahwa persyaratan untuk validasi telah dipenuhi.

#### 1. Linearitas

Linearitas merupakan metode analisis uji untuk memastikan adanya hubungan yang linear antara konsentrasi analit dan sinyal atau respon detektor. Penentuan linearitas memerlukan sedikitnya lima konsentrasi standar yang berbeda-beda. Pengukuran linearitas ditunjukkan dari hasil grafik yang menghasilkan suatu persamaan garis linear yang menghubungkan antara sinyal dengan konsentrasi suatu standar yang menunjukkan koefisien korelasi ( $r$ ) (Sasongko dkk., 2017).

Penentuan linearitas ditentukan untuk mengetahui kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh hasil yang sesuai terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Tujuan dilakukan pengukuran ini adalah untuk memperoleh persamaan garis regresi dari kurva kalibrasi yang dibuat (Trisnawati & Dewi, 2021). Kurva kalibrasi merupakan parameter untuk menentukan hubungan linier antara konsentrasi analit dengan absorbansi (Rosita dkk., 2022). Koefisien korelasi ( $r$ ) digunakan sebagai parameter adanya hubungan linier pada analisis regresi linier  $y = a + bx$ . Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai  $b = 0$  dan  $r = +1$  atau  $-1$  bergantung pada arah garis, sedangkan nilai  $a$  menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004). Menurut Association of Official Analytical Chemist (2012) syarat keberterimaan linearitas yaitu ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $R^2$ ) lebih besar dari 0,990 atau ( $r$ ) lebih besar dari 0,995.

## **2. Limit Deteksi dan Limit Kuantitasi**

Kinerja instrumen atau suatu metode analisis dinilai dengan menentukan LoD (*limit of detection*) dan LoQ (*limit of quantitation*). Jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi dalam sampel adalah limit deteksi. Jumlah terkecil analit yang dapat dikuantifikasi dengan tepat dalam sampel dikenal sebagai batas kuantitasi. Batas deteksi dan batas kuantitasi sebenarnya tidak berbeda secara signifikan, sehingga hanya satu metode yang digunakan untuk prosedur analisis. Kedua metode tersebut berbeda berdasarkan cara perhitungannya (Harmita, 2004).

Cara penentuan limit deteksi dan limit kuantitasi pada alat spektrofotometer serapan atom yang umum dilakukan adalah dengan

menggunakan blanko. Prinsip penentuan LoD dan LoQ dengan menggunakan blanko adalah larutan yang digunakan untuk analisis diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan alat tertentu minimal 7 kali ulangan (Sumarno & Kusumaningtyas, 2018). Batas deteksi adalah konsentrasi rata-rata analit yang sama dengan nilai blanko sampel ditambah tiga standar deviasi seperti yang ditunjukkan dalam persamaan 1 (Riyanto, 2014), sedangkan batas kuantitasi adalah konsentrasi rata-rata analit yang sama dengan nilai blanko ditambah sepuluh standar deviasi seperti yang ditunjukkan dalam persamaan 2 (Association of Official Analytical Chemist, 2016).

$$\text{LoD} = \bar{x} + 3 \text{ SD} \quad (1)$$

$$\text{LoQ} = \bar{x} + 10 \text{ SD} \quad (2)$$

Keterangan:

$\bar{x}$  : konsentrasi rata-rata blanko

SD : Standar deviasi

Kemampuan instrumen untuk mendeteksi analit yang dapat dianalisis dengan alat dievaluasi menggunakan uji LoD dan LoQ. Alat deteksi tersebut masih efektif dan mampu memberikan hasil analisis analit yang sesuai apabila hasil LoD dan LoQ yang dihasilkan bermagnitudo kecil. Ada hubungan yang sangat kuat antara batas deteksi dan batas kuantitasi, sehingga keduanya tidak dapat dipisahkan (Ratnawati dkk., 2019).

### **3. 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 (Anggraini dkk., 2018). Akurasi (ketepatan) adalah tingkatan kedekatan hasil uji yang didapatkan terhadap nilai sebenarnya. Akurasi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu menggunakan CRM (*Certified Reference Material*), membandingkan dengan metode lain dan penambahan sejumlah standar (*spiking*) (Sukaryono dkk., 2017).

Akurasi metode masih dinilai baik jika persentase perolehan kembalinya masih memenuhi rentang yang dipersyaratkan. Konsentrasi yang ditambahkan mewakili kadar rendah, sedang, dan tinggi bertujuan untuk mengetahui ketepatan metode analisis pada kadar yang berbeda (Harmono, 2020). Tujuan akurasi ini adalah untuk memastikan seberapa dekat nilai yang diperoleh dan yang diterima sesuai satu sama lain. Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan menggunakan Persamaan berikut (Association of Official Analytical Chemist, 2016):

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{CF}-\text{CU}}{\text{CA}} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan :

CF : kadar terukur logam dalam sampel setelah ditambah standar

CU : kadar terukur logam dalam sampel sebelum ditambah standar

CA : kadar teoritis larutan baku yang ditambahkan

Hasil akurasi metode yang baik sangat diperlukan sebagai bukti bahwa metode yang sedang dikembangkan memenuhi persyaratan validasi. Hal ini sangat tergantung pada seluruh tahapan dalam metode analisis antara lain kondisi laboratorium yang baik, ketelitian dalam preparasi sampel, pereaksi dan pelarut

yang baik, taat asas sesuai dengan prosedur, dan alat ukur yang terkalibrasi (Taufiq dkk., 2016). Menurut Association of Official Analytical Chemist (2016) nilai akurasi yang dapat diterima pada setiap konsentrasi ditunjukkan dalam tabel 2.2.

**Tabel 2.2 Akurasi yang diharapkan sebagai fungsi konsentrasi analit (AOAC, 2016)**

Analit %	Frakasi massa (C)	Satuan	% Akurasi
100	1	100%	98-102
10	10 <sup>-1</sup>	10%	97-103
1	10 <sup>-2</sup>	1%	95-105
0,1	10 <sup>-3</sup>	0,1%	90-107
0,01	10 <sup>-4</sup>	100 ppm (mg/kg)	80-110
0,001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm (mg/kg)	60-115
0,0001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm (mg/kg)	40-120
0,00001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb (µg/kg)	
0,000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb (µg/kg)	
0,0000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb (µg/kg)	

#### 4. Presisi

Istilah presisi mengacu pada sejauh mana serangkaian pengukuran yang diambil dari beberapa sampel homogen dari sampel yang sama di bawah serangkaian kondisi tertentu sesuai satu sama lain (Riyanto, 2014). Presisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus dibawah ini (Association of Official Analytical Chemist, 2016):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (4)$$

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (5)$$

Keterangan :

SD : Standar deviasi (simpangan baku)

$\bar{x}$  : Rerata hasil pengukuran

Presisi mempunyai 3 jenis, yaitu *repeatability* (keterulangan) yaitu ketepatan jika dilakukan oleh laboratorium, peralatan dan analis yang sama; intra *reproducibility* (ketertiruan) yaitu ketepatan jika dilakukan oleh laboratorium dan peralatan yang sama dengan analis yang berbeda; dan Inter *reproducibility* (ketertiruan) yaitu ketepatan jika dilakukan oleh laboratorium, peralatan dan analis yang berbeda (Sukaryono dkk., 2017). Presisi metode juga dapat dilakukan dengan *intermediate precision* (inter-day). Proses ini dilakukan pada sampel sama, menggunakan metode sama, analis sama dan instrumen yang sama, namun dilakukan pada hari yang berbeda (Taufiq dkk., 2016).

Presisi dapat dikatakan pula ukuran kedekatan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran ulang dari ukuran yang sama. Hal ini dapat digunakan untuk mencerminkan kesalahan acak yang terjadi dalam suatu metode. Kesalahan acak yang dilakukan dalam laboratorium sangat susah untuk dihindari, hal ini dikarenakan banyak berhubungan dengan instrumen ukur, peralatan contoh yang diukur, prosedur, dan lingkungan sekitar (Trisnawati & Dewi, 2021). Menurut Association of Official Analytical Chemist (2016) nilai presisi yang dapat diterima pada setiap konsentrasi ditunjukkan dalam tabel 2.3.

**Tabel 2.3 Presisi yang diharapkan sebagai fungsi konsentrasi analit (AOAC, 2016)**

<b>Analit %</b>	<b>Fraksi massa (C)</b>	<b>Satuan</b>	<b>% RSD</b>
100	1	100%	1,3
10	10 <sup>-1</sup>	10%	1,9
1	10 <sup>-2</sup>	1%	2,7
0,1	10 <sup>-3</sup>	0,1%	3,7
0,01	10 <sup>-4</sup>	100 ppm (mg/kg)	5,3
0,001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm (mg/kg)	7,3
0,0001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm (mg/kg)	11
0,00001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb (µg/kg)	15
0,000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb (µg/kg)	21
0,0000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb (µg/kg)	30

### 2.1.7 Estimasi Ketidakpastian

Ketidakpastian merupakan persyaratan yang diharuskan dalam sistem akreditasi berdasarkan SNI ISO/IEC 17025 (2017). Estimasi ketidakpastian merupakan indikator yang dapat digunakan untuk menentukan kehandalan atau kapabilitas suatu laboratorium pengujian atau kalibrasi. Ketidakpastian menunjukkan bahwa laboratorium tersebut sudah memperhitungkan faktor kesalahan dalam penentuan nilai *true value* (nilai benar). Ketidakpastian juga digunakan untuk mengevaluasi unjuk kerja laboratorium uji yang ikut dalam uji profisiensi (Rohani dkk., 2021).

Sumber-sumber ketidakpastian antara lain adalah sampling, preparasi cuplikan, kalibrasi peralatan, instrumen, kesalahan random, kesalahan sistematik, dan personil. Kategori komponen ketidakpastian ada 2, yaitu tipe A (dari data primer) yang berdasarkan pekerjaan eksperimental dan dihitung dari rangkaian pengamatan berulang, dan tipe B (dari data sekunder) yang berdasarkan informasi yang dapat dipercaya, seperti dari pabrik, buku literatur, jurnal, internet, dan sebagainya (Supriyanto & Susana, 2010).

Cara menghitung ketidakpastian baku ( $\mu$ ) adalah (Supriyanto & Susana, 2010):

$$\text{Tipe A: } \mu = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (6)$$

Keterangan:

s : simpangan baku

n : jumlah pengamatan

$\mu$  : ketidakpastian baku

$$\text{Tipe B: SD } \mu(x) = s \quad (7)$$

- Distribusi normal tingkat kepercayaan 95%

$$\mu(x) = \frac{S}{2} \quad (8)$$

- Distribusi normal tingkat kepercayaan 99%

$$\mu(x) = \frac{S}{3} \quad (9)$$

- Distribusi rectangular

$$\mu(x) = \frac{S}{\sqrt{3}} \quad (10)$$

- Distribusi triangular

$$\mu(x) = \frac{S}{\sqrt{6}} \quad (11)$$

Cara menghitung ketidakpastian baku gabungan ( $\mu_c$ ) yaitu :

$$\mu_c = \sqrt{\mu_a^2 + \mu_b^2} \dots \dots \dots \text{ (untuk satuan yang sama)} \quad (12)$$

$$\mu_c/C = \sqrt{(\mu_{a/a})^2 + (\mu_{b/b})^2} \dots \dots \dots \text{ (untuk satuan yang tidak sama)} \quad (13)$$

Secara umum urutan langkah-langkah yang harus diperhatikan agar lebih mudah menentukan ketidakpastian pengukuran adalah menyusun model langkah-

langkah pemrosesan, menginventarisasi semua faktor yang dapat menyebabkan kesalahan pada hasil akhir dalam bentuk diagram sebab akibat, dan mengelompokkan faktor-faktor di atas ke dalam kategori komponen ketidakpastian, melakukan estimasi masing-masing komponen ketidakpastian, sehingga ekuivalen dengan simpangan baku, menggabungkan komponen ketidakpastian baku untuk menghasilkan ketidakpastian baku gabungan, kemudian ketidakpastian yang diperoleh diperluas untuk memberikan suatu interval dimana nilai kuantitas yang diukur diperkirakan berada dan pada tingkat kepercayaan tertentu (Supriyanto & Susana, 2010).

#### **2.1.8 Destruksi**

Preparasi sampel merupakan langkah yang penting dalam analisis unsur mikro yang menggunakan pengukuran spektrofotometri serapan atom. Pemilihan metode preparasi sampel sangat mempengaruhi hasil yang akan didapatkan nantinya. Bahan-bahan organik yang ada dalam sampel harus di destruksi terlebih dahulu. Fungsi dari destruksi adalah untuk memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis (Dewi, 2012).

Destruksi merupakan suatu perlakuan pemecahan senyawa menjadi unsur-unsurnya sehingga dapat dianalisis. Istilah destruksi ini disebut juga perombakan, yaitu dari bentuk organik logam menjadi bentuk logam-logam anorganik. Pada dasarnya ada dua jenis destruksi yang dikenal dalam ilmu kimia yaitu destruksi basah (oksida basah) dan destruksi kering (oksida kering). Destruksi basah adalah perombakan sampel dengan asam-asam kuat baik tunggal maupun campuran, kemudian dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator (Kristianingrum, 2012).

Metode destruksi basah dapat dilakukan secara terbuka maupun tertutup. Destruksi basah terbuka yaitu campuran antara contoh uji dengan reagen asam kuat dipanaskan secara terbuka di atas penangas listrik (*Hot Plate Method*). Sedangkan destruksi basah tertutup adalah reaksi pelarutan dan pemecahan dilakukan dalam wadah tertutup yang lebih aman terhadap penguapan dan pemuaihan bahan (Rodiana dkk., 2013).

Destruksi kering merupakan perombakan organik logam di dalam sampel menjadi logam-logam anorganik dengan jalan pengabuan sampel dalam *muffle furnace* dan memerlukan suhu pemanasan tertentu. Pada umumnya dalam destruksi kering ini dibutuhkan suhu pemanasan antara 400-800 °C, tetapi suhu ini sangat tergantung pada jenis sampel yang akan dianalisis, untuk menentukan suhu pengabuan dengan sistem ini terlebih dahulu ditinjau jenis logam yang akan dianalisis, bila oksida-oksida logam yang terbentuk bersifat kurang stabil, maka perlakuan ini tidak memberikan hasil yang baik. Logam Fe, Cu, dan Zn oksidanya yang terbentuk adalah  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , FeO, CuO, dan ZnO. Semua oksida logam ini cukup stabil pada suhu pengabuan yang digunakan (Kristianingrum, 2012). Pelarut-pelarut yang dapat digunakan untuk destruksi antara lain asam nitrat, asam sulfat, asam perklorat dan asam klorida, dari beberapa macam asam tersebut dapat digunakan secara tunggal maupun campuran (Asmorowati dkk., 2020).

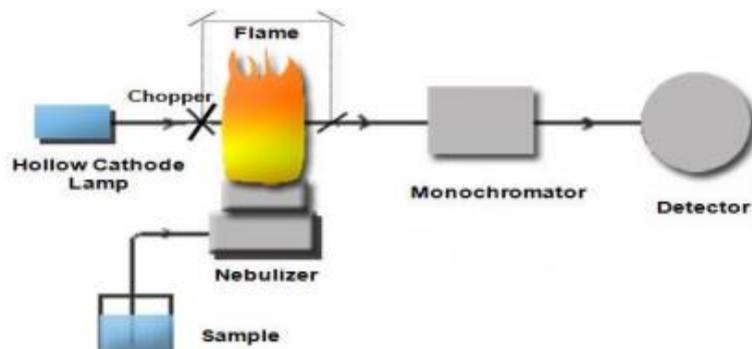
### **2.1.9 Spektrofotometri Serapan Atom**

Spektrofotometri serapan atom atau yang biasa dikenal dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) merupakan suatu metode yang dipakai untuk memutuskan kandungan ion logam spesifik dengan jalur mengukur intensitas

serapan sinar pada jauh gelombang khusus oleh uap atom unsur yang ditimbulkan dari materi, misalnya dengan mengalirkan air zat kedalam cahaya api (Farrukh, 2012). AAS merupakan teknik analisis unsur kimia yang menggunakan prinsip penyerapan energi (radiasi pada panjang gelombang tertentu) oleh atom sehingga menimbulkan keadaan energi elektronik tereksitasi (Isnaeni, 2021). Alat AAS dapat mendeteksi keberadaan logam pada suatu bahan sesuai dengan hukum Lambert-Beer. Hukum ini menjelaskan bahwa semua sinar yang telah diserap berbanding lurus dengan banyaknya kadar unsur zat pada logam berat, sehingga akan didapatkan konsentrasinya (Eika, 2019).

### **1. Spektrofotometri Serapan Atom Nyala**

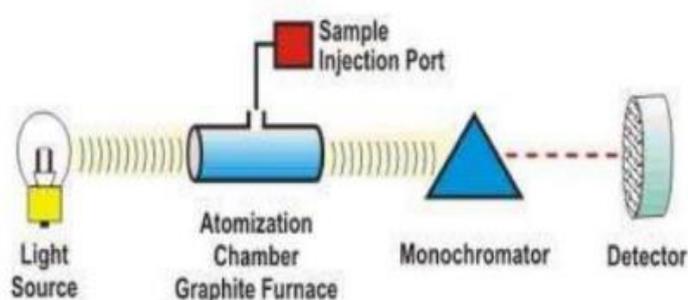
Teknik spektrofotometri serapan atom nyala atau FAAS (*Flame Atomic Absorption Spectrophotometry*) umumnya menggunakan udara/asetilena sebagai sumber nyala. Pelarut diuapkan dan chopper akan memecah sampel menjadi butir-butir kabut kemudian membentuk aerosol, setelah proses pengkabutan, campuran gas menuju burner (nyala) untuk proses pengatoman. Cahaya dari lampu katoda berongga (dipilih berdasarkan elemen yang akan ditentukan) melewati awan atom, atom menyerap sinar dari lampu, kemudian diukur dengan detektor, yang sebanding dengan kadar zat (Isnaeni, 2021).



**Gambar 2.1** Ilustrasi teknik FAAS (Isnaeni, 2021)

## 2. Spektrofotometri Serapan Atom Tungku Grafit

Teknik spektrofotometri serapan atom tungku grafit atau GF-AAS (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry*), atomisasi dilakukan tanpa nyala yaitu melalui energi listrik pada batang karbon yang berbentuk tabung grafit yang dipanaskan pada suhu hingga 3000 °C untuk menghasilkan awan atom. Kerapatan atom yang lebih tinggi dan waktu tinggal lebih lama meningkatkan batas deteksi AAS tanpa nyala hingga 1000x dibandingkan dengan AAS nyala yaitu hingga kisaran sub-ppb (Isnaeni, 2021).



**Gambar 2.2** Ilustrasi teknik GF-AAS (Isnaeni, 2021)

Metode GF-AAS terdiri dari beberapa tahapan atomisasi diantaranya adalah (Filho *et al.*, 2012):

- a. Tahap pengeringan, dimana sampel (5 hingga 50  $\mu\text{L}$ ) dimasukkan oleh injektor otomatis, dan pemrograman analitik dimulai. Tahap ini bertujuan untuk menguapkan sampel dan zat-zat volatil untuk menghindari percikan sampel yang mengakibatkan presisi analitik yang buruk. Suhu tungku secara perlahan dinaikkan hingga suhu pelarut menguap yaitu 100-120  $^{\circ}\text{C}$  kurang dari 1 menit. Waktu yang berlalu pada setiap fase analitik sangat penting, karena hilangnya analit oleh penguapan dapat terjadi, atau proses fisikokimia sampel mungkin tidak lengkap, terutama pada fase pengeringan ini, dimana jumlah konstituen volatil yang ada dalam sampel lebih besar.
- b. Tahap pengabuan, suhu dinaikkan secara bertahap hingga mencapai nilai pirolisis (*Ash*). Tahap ini bertujuan untuk menguapkan komponen matriks anorganik dan organik secara selektif dari sampel, meninggalkan elemen dalam matriks yang kurang kompleks untuk dianalisis.
- c. Tahap pendinginan pra atomisasi untuk memaksimalkan laju pemanasan dan memperluas zona isothermal di dalam tabung setelah pemanasan.
- d. Tahap atomisasi, tahap ini bertujuan untuk menghasilkan uap atom dari elemen analit, sehingga memungkinkan penyerapan atom dapat diukur. Berbeda dari yang tahap lain pada tahap ini, gas inert, biasanya argon, terputus sehingga interaksi maksimum awan atom dengan lampu elektromagnetik dapat terjadi yang membantu memaksimalkan waktu tinggal sampel di dalam tabung dan meningkatkan sinyal absorbansi pengukuran.

- e. Tahap pembersihan dan pendinginan, pada tahapan ini menggunakan suhu yang lebih tinggi untuk membakar residu sampel yang mungkin tersisa di tanur dan memastikan tidak ada sisa-sisa yang menyebabkan efek memori, yang mengganggu atomisasi. Tahap terakhir yaitu pendinginan sistem (*Cool Down*), selain membantu mendinginkan sistem dan tidak mengganggu sifat kimia sampel di dalam tabung selama fase analisis, gas inert digunakan untuk meminimalkan oksidasi grafit pada tabung.

Signal pada proses pengukuran menggunakan GF-AAS dapat berubah dengan cepat dan kemungkinan terjadinya gangguan saat pengukuran lebih banyak dari tipe AAS lainnya. Signal pengukuran yang cepat berubah mengakibatkan hasil keterulangan (presisi) yang kurang baik, karena hasil pengukuran yang diulang belum tentu menghasilkan absorbansi yang sama atau mendekati hasil yang sebelumnya (Filho *et al.*, 2012). Secara umum, gangguan kimia dalam analisis menggunakan GF-AAS dapat diatasi dengan penggunaan *chemical modifier*. *Chemical modifier* adalah suatu senyawa yang ditambahkan baik ke dalam sampel maupun standard untuk mengurangi gangguan atau mengisolasi analit ke dalam bentuk tertentu yang memungkinkan terjadinya pemisahan penyerapan atom antara analit dengan matriks atau senyawa pengganggu (Ketrin, 2015).

### **3. Spektrofotometri Serapan Atom Merkuri Uap Dingin**

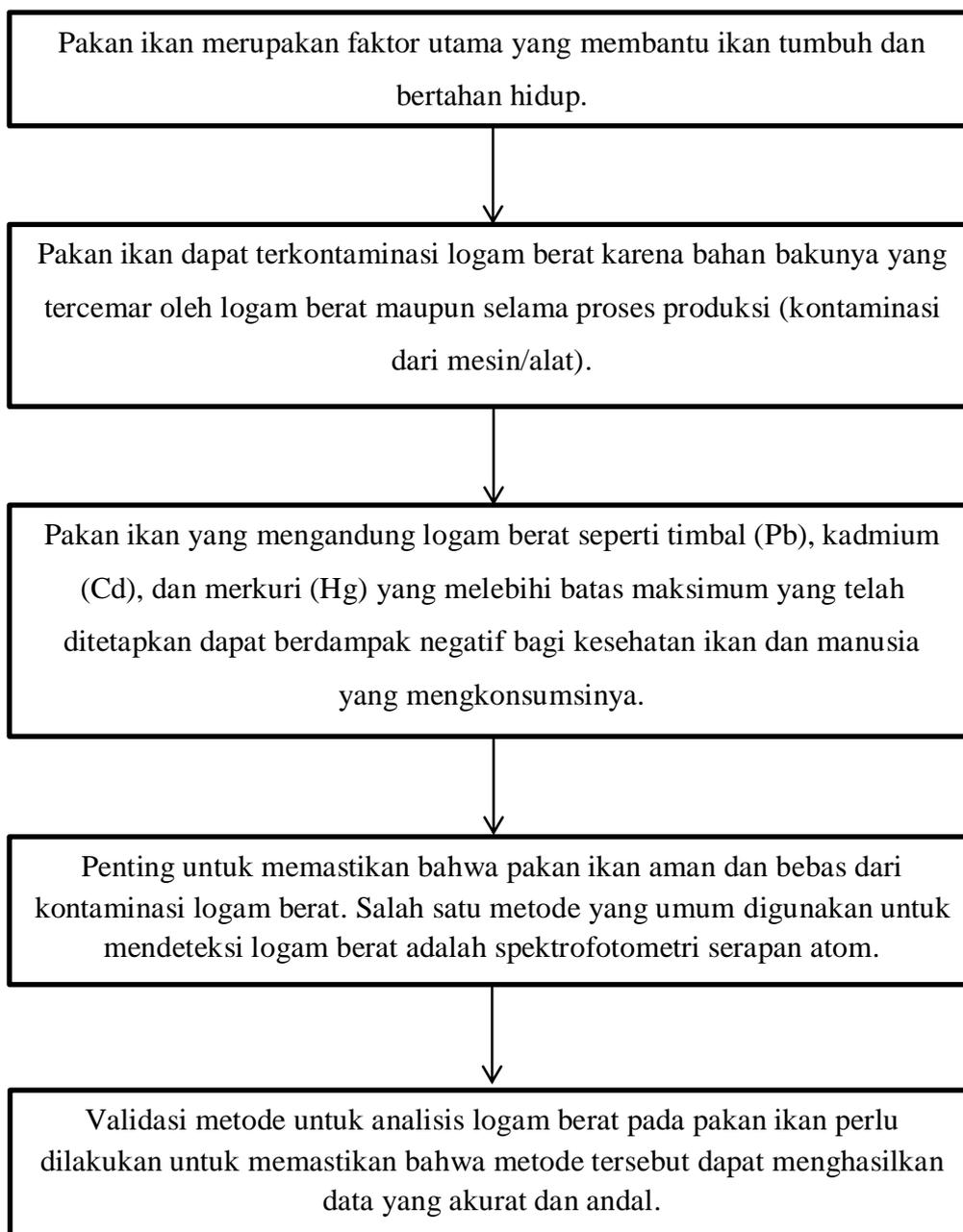
Teknik spektrofotometri serapan atom merkuri uap dingin atau CV-AAS (*Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry*) adalah teknik yang biasa digunakan untuk analisis merkuri. Teknik ini dikenal merkuri uap dingin karena

atomisasi dilakukan tanpa adanya pemanasan. Teknik ini bergantung pada penambahan jumlah zat pereduksi yang sesuai, karena merkuri ditemukan di larutan dalam bentuk ion Hg(II) dan perlu direduksi menjadi unsur gas Hg (Vicentino *et al.*, 2015). Teknik ini hanya digunakan untuk menentukan merkuri karena karakteristik kimianya yang direduksi menjadi keadaan atom melalui reaksi sampel dengan zat pereduksi kuat seperti timah klorida atau natrium borohidrida dalam sistem reaksi tertutup. Serupa dengan sistem sebelumnya, raksa bebas yang mudah menguap kemudian didorong dari labu reaksi dengan gelembung udara atau argon melalui larutan, dibawa dalam jalur cahaya spektrometer serapan atom. Semua merkuri dalam larutan sampel yang ditempatkan dalam labu reaksi diatomisasi secara kimiawi dan diangkut ke sel sampel untuk mengukur absorbansi. Keuntungan dari teknik ini adalah sensitivitas dapat ditingkatkan hanya dengan penambahan jumlah sampel. Batas deteksi merkuri dengan teknik ini adalah sekitar 0,02 µg/L (Filho *et al.*, 2012). Reduktor yang biasa digunakan untuk mereduksi Hg<sup>2+</sup> ion menjadi Hg<sup>0</sup> adalah SnCl<sub>2</sub>, dan untuk menjaga asam media cukup untuk mempromosikan evolusi uap Hg yang sesuai, ditambahkan larutan HCl (Panggabean dkk., 2018).

Dibandingkan dengan *inductively coupled plasma* (ICP), metode ini secara signifikan lebih murah dan memiliki tingkat reproduktifitas yang lebih tinggi daripada GF-AAS. Volume sampel yang diperlukan kira-kira 10 mL, dan batas deteksi (LoD) biasanya dalam rentang ppb. Akibatnya, risiko kontaminasi berkurang dengan kemampuan menganalisis ukuran sampel kecil. Ventilasi dan

penggunaan alat pelindung diri (APD) yang sesuai semakin mengurangi kemungkinan terpapar merkuri pada saat pengukuran (Kristian dkk., 2015).

## 2.2 Kerangka Pemikiran



**Gambar 2.3** Kerangka pemikiran

### 2.3 Hipotesis

1. Hasil validasi metode dalam analisis logam berat timbal (Pb), kadmium (Cd), dan merkuri (Hg) pada sampel pakan ikan dengan metode spektrofotometri serapan atom menunjukkan hasil yang valid dan sesuai dengan parameter validasi metode, yaitu linearitas, akurasi, presisi, dan batas deteksi metode yang telah ditentukan.
2. Hasil estimasi ketidakpastian pengukuran memiliki nilai yang kecil.

### 2.4 Penelitian Relevan

**Tabel 2.4 Penelitian relevan**

<b>Peneliti &amp; Tahun</b>	<b>Judul</b>	<b>Hasil</b>	<b>Publikasi</b>
Magdalena dkk (2020)	Validasi metode penentuan kadmium (Cd) pada pupuk organik padat menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA) di PT. Global Environment Laboratory	nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9997 dengan ketertiruan nilai % RSD sebesar 0,028% . Nilai akurasi dengan rentang 105,05% sampai 116,86%. Nilai limit deteksi (LoD) sebesar 0,38 mg/kg dan nilai limit kuantisasi (LoQ) sebesar 0,43 mg/kg. Nilai limit instrumen (IDL) sebesar 0,022 ppm dan nilai limit metode (MDL) sebesar 0,0194 ppm	Prosiding Seminar Nasional Kimia Berwawasan Lingkungan 2020
Habibi (2020)	Validasi metode destruksi basah dan destruksi kering pada penentuan logam timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam tanaman rumput	Validitas ditunjukkan dengan nilai kadar logam yang optimal, nilai korelasi standar di atas 0,995, % RPD dibawah 10%, dan % R dalam rentang 85% - 115 %.	Integrated Lab Journal. 1(1): 25-23
Harmono (2020)	Validasi Analisis Metode Logam	nilai koefisien korelasi (r) > 0,9992 dan	Indonesian Journal of

	Merkuri (Hg) Terlarut pada Air Permukaan dengan Automatic Mercury Analyzer	koefisien determinasi ( $r^2$ ) > 0,9984. Nilai batas deteksi (LoD) dalam sampel 0,07 $\mu\text{g/L}$ . Nilai batas kuantitasi (LoQ) dalam sampel 0,24 $\mu\text{g/L}$ . Simpangan baku relatif (RSD) yang diperoleh untuk keterulangan sebesar 3,17 % dan presisi antara sebesar 6,75 %	Laboratory. 2(3): 11
Trisnawati & Dewi (2021)	Validasi metode uji merkuri menggunakan <i>inductively coupled plasma emission spectrometry</i> (ICPE) 9000	nilai r sebesar 0,9969, nilai LoD dan LoQ sebesar 0,1 mg/L dan 0,3 mg/L, akurasi sudah masuk dalam rentang yang ditetapkan yakni 90 - 110%, hasil analisis uji presisi memiliki nilai % RSD < 2/3 CV Horwitz.	Cakra Kimia. 9: 24-28
Tuslinah dkk (2022)	Validasi metode analisis logam timbal (Pb) dalam rumput laut Menggunakan metode spektrofotometri uv-vis	nilai r yaitu 0,9979; batas deteksi (BD) 0,459 ppm; batas kuantisasi (BK) 1,53 ppm. Akurasi yang diperoleh pada konsentrasi 2 ppm (80%) , 2,5 ppm (100%), dan 3 ppm (120%) berturut-turut 107,6531%, 90,1088% dan 102,4376%. Presisi dari hasil pengukuran pada konsentrasi 1 ppm sampai 6 ppm tidak melebihi 15%.	Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada : Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi. 22(1): 23-28

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2022 sampai April 2023. Tempat penelitian dilaksanakan di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, spatula, mikropipet (*Eppendorf*), pipet tetes, blender, *refrigerator*, labu takar (*Iwaki*), tabung sampel (*vessel*), rak tabung *microwave*, penampung *vessel*, *microwave digestion* (*Ethos UP*), seperangkat alat spektrofotometri serapan atom (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) *graphite furnace* dan *flame* yang dilengkapi *cold vapor* (*Agilent*), corong gelas, beaker gelas (*Iwaki*), dan botol semprot.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan ikan, asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ) *p.a* 65% (*Merck*), standar Pb 1000 mg/L (*Merck*), standar Cd 1000 mg/L (*Merck*), standar Hg 1000 mg/L (*Merck*), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 30% (*Merck*), timah (II) klorida dihidrat ( $\text{SnCl}_2$ ) (*Merck*), asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 85% (*Merck*), asam klorida ( $\text{HCl}$ ) 37% (*Merck*), dan akuades.

### **3.3 Prosedur Kerja (SNI 2354-5, 2011 dan SNI 2354-6, 2016)**

#### **3.3.1 Preparasi Sampel**

Sampel pakan ikan dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi partikel kecil. Tempatkan sampel dalam wadah *polystyrene* yang bersih dan tertutup. Jika sampel tidak langsung dianalisis, simpan sampel dalam *refrigerator*.

#### **3.3.2 Destruksi Basah Menggunakan *Microwave Digestion***

Sampel ditimbang sebanyak 0,3 g ke dalam tabung sampel (*vessel*), kemudian dicatat beratnya. Masing-masing sampel ditambahkan larutan standar Pb, Cd, dan Hg sebesar 0,5; 1; dan 1,5 MRL (maksimum residu limit) untuk *spiked* sampel sedangkan untuk blanko sampel tidak ditambahkan dengan larutan standar, kemudian tambahkan secara berurutan 5 mL asam nitrat pekat ( $\text{HNO}_3$ ) 65% dan 1 mL hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 30%. Lakukan destruksi dengan mengatur program *microwave*. Pindahkan hasil destruksi ke labu takar 50 mL lalu tambahkan akuades sampai tanda batas.

#### **3.3.3 Pembacaan Kurva Kalibrasi dan Sampel pada AAS**

Alat AAS diatur dan dioptimalkan untuk analisis sesuai dengan petunjuk penggunaan alat. Siapkan larutan  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1000 ppm sebagai matrik *modifier* untuk pengujian Pb dan Cd, larutan  $\text{SnCl}_2$  20% dalam HCl 20% sebagai reduktor pengujian Hg, dan larutan standar kerja dengan titik kadar 0; 7,5; 15; 22,5; 37,5 dan 60 ppb (Pb), 0; 0,25; 0,5; 1; 2 dan 4 ppb (Cd) dan 0; 2; 4; 8; 16 dan 30 ppb (Hg). Larutan standar kerja, sampel dan *spike* dibaca menggunakan GF-AAS (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry*) untuk pengujian Pb dan Cd dan CV-AAS (*Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry*) untuk

pengujian Hg pada panjang gelombang 283,3 nm (Pb), 228,8 nm (Cd) dan 253,7 nm (Hg). Tentukan kadar sampel berdasarkan kurva kalibrasi.

### **3.4 Prosedur Validasi (AOAC, 2016)**

#### **3.4.1 Linearitas**

Siapkan larutan standar kerja pada konsentrasi 0; 7,5; 15; 22,5; 37,5 dan 60 ppb (Pb), 0; 0,25; 0,5; 1; 2 dan 4 ppb (Cd) dan 0; 2; 4; 8; 16 dan 30 ppb (Hg). Lakukan pengujian sesuai prosedur kerja. Buat kurva kalibrasi standar dengan memplotkan konsentrasi standar (sumbu  $x$ ) terhadap absorbansi setiap standar (sumbu  $y$ ) pada kurva linear. Buat kurva kalibrasi hubungan antara  $x$  dan  $y$  dengan persamaan garis  $y = bx + a$ .

#### **3.4.2 Akurasi dan Presisi**

Sampel pakan ditimbang ke dalam tabung sampel (*vessel*), kemudian dicatat beratnya. Tambahkan sampel dengan analit pada konsentrasi Pb, Cd, dan Hg 0,5; 1; dan 1,5 MRL (maksimum residu limit) masing-masing sebanyak 7 kali ulangan (keterulangan/repeatability). Lakukan pengujian pada 3 hari berbeda untuk *intermediate precision* (presisi antara). Lakukan pengujian sesuai prosedur kerja. penentuan persen akurasi dapat dihitung berdasarkan persamaan 3, sedangkan presisi dihitung berdasarkan persamaan 5.

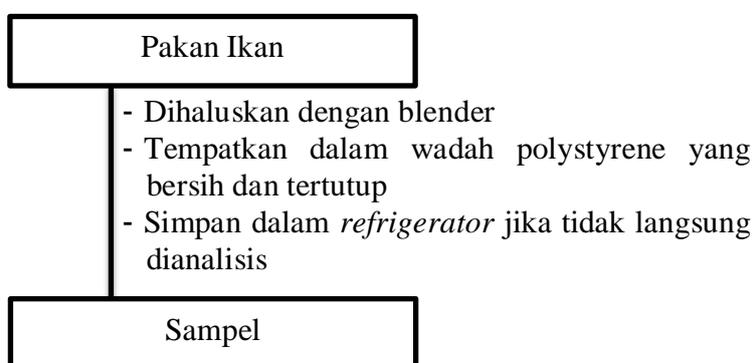
#### **3.4.3 Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantitasi (LoQ)**

Penentuan batas deteksi dan kuantitasi dilakukan dengan menyiapkan 20 sampel blanko yang telah ditimbang ke dalam tabung sampel (*vessel*), kemudian catat beratnya. Lakukan pengujian sesuai prosedur kerja. LoD dihitung berdasarkan persamaan 1, sedangkan LoQ dihitung berdasarkan persamaan 2,

kemudian lakukan penetapan dengan cara menambahkan menyiapkan sampel untuk 7 kali ulangan yang mengandung analit sebesar nilai LoD dan LoQ yang diperoleh. Lakukan analisis sesuai prosedur kerja dan amati ke tujuh nilai yang dihasilkan.

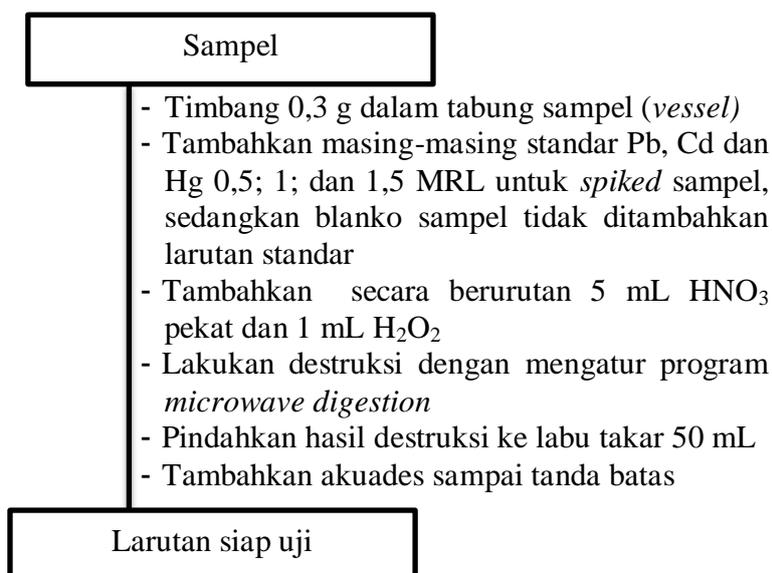
### 3.5 Diagram Alir Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi Sampel



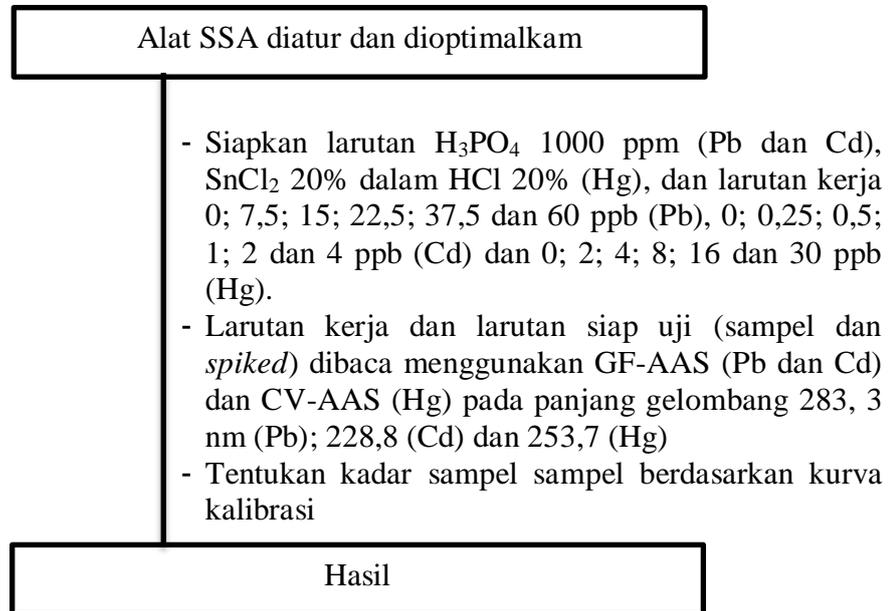
Gambar 3.1 Diagram alir preparasi sampel

#### 3.5.2 Destruksi Sampel



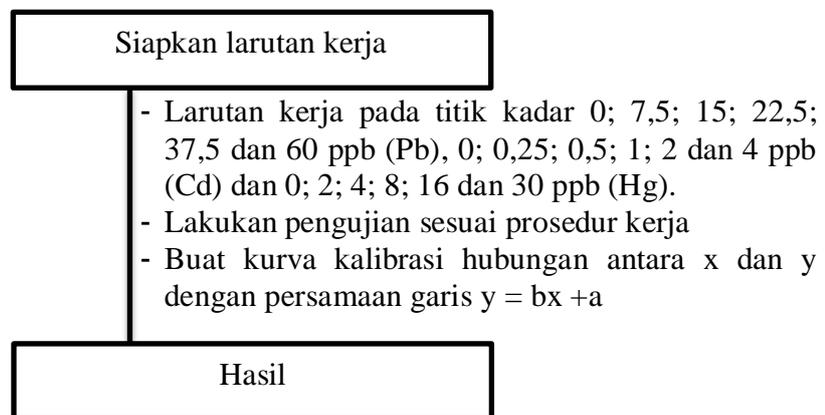
Gambar 3.2 Diagram alir destruksi sampel

### 3.5.3 Pembacaan Kurva Kalibrasi dan Sampel pada AAS



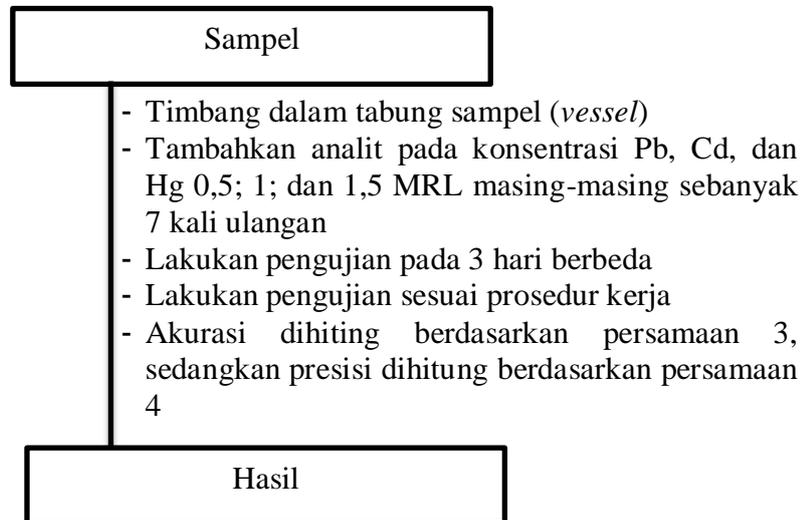
**Gambar 3.3** Diagram alir pembacaan kurva kalibrasi dan sampel pada AAS

### 3.5.4 Linearitas



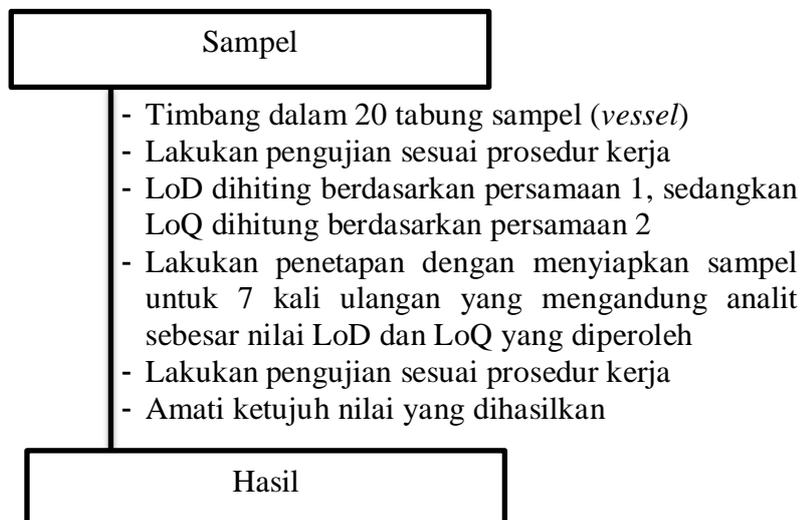
**Gambar 3.4** Diagram alir linearitas

### 3.5.5 Akurasi dan Presisi



Gambar 3.5 Diagram alir akurasi dan presisi

### 3.5.6 Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantitasi (LoQ)



Gambar 3.6 Diagram alir Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantitasi (LoQ)

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeniji, C.A. & Okedeyi, O.O. 2017. Preliminary Assessment of Heavy Metal Concentrations in Selected Fish Feed Ingredients in Nigeria. *Journal of Fisheries & Livestock Production*. 05(01): 10–13. doi:10.4172/2332-2608.1000218.
- Adhani, R. & Husaini. 2017. Logam Berat Sekitar Manusia. Lambung Mangkurat University Press: Banjarmasin. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>.
- Anggraini, R., Hairani, R. & Panggabean, A.S. 2018. Validasi Metode Penentuan Hg pada Sampel Waste Water Treatment Plant dengan Menggunakan Teknik Bejana Uap Dingin Spektrofotometer Serapan Atom (CV-AAS). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 16(1): 10.
- Anhwange, B.A., Asemave, K., Kim, B.C., & Nyiaatagher, D.T. 2012. Heavy Metals Contents of Some Synthetic Fish Feeds Found within Makurdi Metropolis. *International Journal of Food Nutrition and Safety*. 2(2): 54–61.
- Association of Official Analytical Chemist. 2012. Appendix K: Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. *AOAC International and Official Method of Analysis*: 1–38.
- Association of Official Analytical Chemist. 2016. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. *AOAC International and Official Method of Analysis*: 1–18.
- Asmorowati, D.S., Sumarti, S.S. & Kristanti, I.I. 2020. Perbandingan Metode Destruksi Basah dan Destruksi Kering untuk Analisis Timbal dalam Tanah di Sekitar Laboratorium Kimia FMIPA UNNES. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 9(3): 169–173. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>.
- Azizah, M. & Maslahat, M. 2021. Kandungan Logam Berat Timbal (Pb), Kadmium (Cd), dan Merkuri (Hg) di dalam Tubuh Ikan Wader (*Barbodes binotatus*) dan Air Sungai Cikaniki, Kabupaten Bogor. *Limnotek : perairan darat tropis di Indonesia*. 28(2): 83–93. doi:10.14203/limnotek.v28i2.331.
- Badan Standarisasi Nasional. 2009. SNI 7387:2009: Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan.
- Badan Standarisasi Nasional. 2011. SNI 2354-5: 2011 : Cara Uji Kimia - Bagian 5: Penentuan Kadar Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) Pada Produk Perikanan.
- Badan Standarisasi Nasional. 2016. SNI 2354-6: 2016 : Cara Uji Kimia - Bagian 6: Penentuan Kadar Logam Berat Merkuri (Hg) Pada Produk Perikanan.
- Badan Standarisasi Nasional. 2017. SNI ISO/IEC 17025:2017: Persyaratan umum kompetensi laboratorium pengujian dan laboratorium kalibrasi.
- Badan Standarisasi Nasional. 2022. SNI 7549-2:2022: Pakan Buatan untuk Udang Vaname.
- Bernard, E. & Adetola, O. 2022. Nutritional Composition and Heavy Metal

- Contamination of Prominent Fishmeal Samples. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 17(1): 1–8. doi:10.3923/jfas.2022.1.8.
- Dewi, D.C. Determinasi Kadar Logam Timbal (Pb) dalam Makanan Kaleng menggunakan Destruksi Basah dan Destruksi Kering. *Alchemy*. 2(1): 12–25. doi:10.18860/al.v0i0.2299.
- Djedjibegovic, J., Marjanovic, A., Tahirovic, D., Caklovica, K., Turalic, A., Lugusic, A., Omeragic, E., Sober, M. & Caklovica, F. 2020. Heavy metals in commercial fish and seafood products and risk assessment in adult population in Bosnia and Herzegovina. *Scientific Reports*. 10(1): 1–8. doi:10.1038/s41598-020-70205-9.
- Dwiloka, B., Atmomarsono, U., Bintoro, V.P. & Widianarko, B. 2012. Pengaruh Pakan Mengandung dan Tidak Mengandung Tepung Ikan terhadap Kandungan Pb dan Cd Pada Ayam Broiler. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(3): 77–81.
- Eika, M. 2019. Analisis Kandungan Logam Berat (Pb, Cd, Hg dan Cr) pada Organ Ikan Sapu-Sapu (*Pterygoplichthys pardalis*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Farrukh, M.A. 2012. Atomic Absorption Spectroscopy. In Teach. Pakistan
- Filho, H.J.I., Salazar, R.F.S., Capri, M.R., Neto, A.C., Alcantara, M.A.K. & Peixoto, A.L.C. 2012. State-of-the-Art and Trends in Atomic Absorption Spectrometry. *Universidade de sao paulo*: 14–36. doi:10.5772/26076
- Habibi, Y. 2020. Validasi Metoda Destruksi Basah dan Destruksi Kering pada Penentuan Logam Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) dalam Tanaman Rumpun. *Integrated Lab Journal*. 01(01): 25–31.
- Hadi, M.C. 2013. Bahaya Merkuri di Lingkungan Kita. *Jurnal Skala Husada*. 10(2): 175–183.
- Hananingtyas, I. 2017. Studi Pencemaran Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada Ikan Tongkol (*Euthynnus sp.*) di Pantai Utara Jawa. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*. 1(2): 41–50. doi:10.29080/biotropic.2017.1.2.41-50.
- Harmita, H. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3): 117–135. doi:10.7454/psr.v1i3.3375.
- Harmono, H.D. 2020. Validasi Metode Analisis Logam Merkuri (Hg) Terlarut pada Air Permukaan dengan Automatic Mercury Analyzer. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2(3): 11. doi:10.22146/ijl.v2i3.57047.
- Isnaeni, Neni. 2021. Perbandingan Teknik Spektrofotometri Atom (AAS Nyala, AAS Tanpa Nyala, AES, ICP-AES dan ICP-MAS). <https://www.researchgate.net/publication/348835136>.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B. & Beeregowda, K.N. 2014. Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals. *Interdisciplinary Toxicology*. 7(2): 60–72. doi:10.2478/intox-2014-0009.
- Ketrin, R. 2015. Evaluasi Penggunaan Chemical Modifier pada Analisis Logam dan Semi Logam dengan Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 17(2): 163–173. doi:10.14203/jkti.v17i2.32.

- Khairuddin, Yamin, M. & Syukur, A. 2019. Penyuluhan tentang Sumber-Sumber Kontaminasi Logam Berat pada Siswa SMAN 1 Belo Kabupaten Bima. *Jurnal Pendidikan dan Pengabdian Masyarakat*. 6(1): 5–10.
- Kristian, K.E., Friedbauer, S., Kabashi, D., Ferencz, K.M., Barajas, J.C. & Brien, K.O. 2015). A Simplified Digestion Protocol for the Analysis of Hg in Fish by Cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy. *Journal of Chemical Education*. 92(4): 698–702. doi:10.1021/ed500687b.
- Kristianingrum, S. 2012. Kajian Berbagai Proses Destruksi Sampel dan Efeknya. *Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. 2(3): 195–202.
- Kuntoro, B., Maheswari, R.R.A. & Nuraini, H. 2012. Analisis Cemaran Residu Logam Berat dan Residu Pestisida Organofosfat pada Daging, Hati dan Ginjal Sapi. *Jurnal Peternakan*. 9(2): 55–67.
- Kurniawan, A. & Mustikasari, D. 2019. Review: Mekanisme Akumulasi Logam Berat di Ekosistem Pascatambang Timah. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 17(3): 408. doi:10.14710/jil.17.3.408-415.
- Kusnadi, H. 2014. Pelatihan pembuatan pakan ikan lele, mas dan nila. *Peneliti Pertama Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Bengkulu*: 1–11.
- Magdalena, A.S.M., Panggabean, A.S. & Arif, M.S. 2020. Validasi Metode Penentuan Kadmium (Cd) pada Pupuk Organik Padat menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) di PT. Global Environment Laboratory. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Berwawasan Lingkungan 2020* [Preprint]
- Nuraini., Iqbal & Sabhan. 2015. Analisis Logam Berat dalam Air Minum Isi Ulang (Amiu) dengan menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). *Gravitasi*. 14(1): 36–43.
- Panggabean, A.S., Pasaribu, S.P. & Kristiana, F. 2018. The Utilization of Nitrogen Gas as A Carrier Gas in the Determination of Hg Ions using Cold Vapor-Atomic Absorption Spectrophotometer (CV-AAS). *Indonesian Journal of Chemistry*. 18(2): 279–285. doi:10.22146/ijc.23092.
- Ramdanawati, L., Emawati, E. & Asmayati, B.E. 2017. Analisis Kadar Cemaran Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada Sampel Ikan Air Tawar dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). *Farmagazine*. 4(2): 26–30.
- Ratnawati, N.A., Prasetya, A.T. & Rahayu, E.F. 2019. Validasi Metode Pengujian Logam Berat Timbal (Pb) dengan Destruksi Basah Menggunakan FAAS dalam Sedimen Sungai Banjir Kanal Barat Semarang. *Jurnal Chemical Science*. 8(1): 60–68. Available at: <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>.
- Riyanto. 2014. Validasi dan Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi. Deepublish: Yogyakarta.
- Rodiana, Y., Maulana, H., Masitoh, S. & Nurhasni. 2013. Pengkajian Metode untuk Analisis Total Logam Berat dalam Sedimen menggunakan *Microwave Digestion*. *Jurnal Ecolab*. 7(2): 71–80. doi:10.20886/jklh.2013.7.2.71-80.
- Rohani, S., Kurniah & Nurjannah. 2021. Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

- dalam Metode Penentuan Total *Suspended Solid* (Tss) Secara Gravimetri. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 19(2): 109. doi:10.15578/blta.19.2.2021.109-112.
- Rosita, T., Ningrum, D.A.P., Yanti, Y. & Zaekhan. 2022. Validasi Metode Penetapan Kadar Logam Kadmium (Cd) dalam Sampel Tanah menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)-Nyala Kovalen: *Jurnal Riset Kimia*. 8(3): 326–335.
- Sabbir, W., Rahman, M.Z., Halder, T., Khan, M.N. & Ray, S. 2018. Assessment of Heavy Metal Contamination in Fish Feed Available in Three Districts of South Western Region of Bangladesh. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 6(2): 100–104. www.fisheriesjournal.com.
- Said, N.I. 2010. Metoda Penghilangan Logam Berat (As, Cd, Cr, Ag, Cu, Pb, Ni dan Zn) di dalam Air Limbah Industri. *Jurnal Anestesiologi Indonesia*. 6(2): 136–148.
- Sarkar, M.M., Rohani, M.F., Hossain, M.A.R. & Shahjahan, M. (2022). Evaluation of Heavy Metal Contamination in Some Selected Commercial Fish Feeds Used in Bangladesh. *Biological Trace Element Research*. 200(2): 844–854. doi:10.1007/s12011-021-02692-4.
- Sary, I.R. 2019. Membuat Pakan Ikan. Edited by L. Lisnawati.
- Sasongko, A., Yulianto, K. & Sarasri, D. 2017. Verifikasi Metode Penentuan Logam Kadmium (Cd) dalam Air Limbah Domestik dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*. 6(2): 228–237. doi:10.23887/jst-undiksha.v6i2.10699.
- Sholikha, M., Natasya, F.C. & Puspitasari, L. 2021. Analisis Kandungan Logam Timbal (Pb), Besi (Fe) dan Magnesium (Mg) pada Pakan Ayam Ras Petelur dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). *Sainstech Farma*. 14(2): 109–113. doi:10.37277/sfj.v14i2.1014.
- Sihite, H.M. 2015. Analisis Kandungan Timbal pada Lipstik Impor dan dalam Negeri Serta Tingkat Pengetahuan Konsumen dan Pedagang Terhadap Lipstik yang Beredar di Pasar Petisah Kota Medan Tahun 2015. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.
- Sirait H., Barus, T.A. & Wahyuningsih, H. 2013. Analysis of Content Heavy Metals in Various Fish Species in Batang Toru River, Aek Pahu Tombak and Aek Pahu Hutamosu District South Tapanuli. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 18(2): 12–25.
- Sukaryono, I., Hadinoto, S. & Fasa, L. 2017. Verifikasi Metode Pengujian Cemar Logam pada Air Minum dalam Kemasan (AMDK) dengan Metode AAS-GFA. *Majalah Biam*. 13(1): 8–16.
- Sumarno, D. & Kusumaningtyas, D.I. 2018. Penentuan Limit Deteksi dan Limit Kuantitasi untuk Analisis Logam Timbal (Pb) dalam Air Tawar menggunakan Alat Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Balitbang KKP*. 16: 7–11.
- Supriyanto, C. & Susana, T. 2010. Estimasi Ketidakpastian Hasil Pengujian Cu, Cr, dan Fe dalam Contoh Sedimen dengan Metode F-AAS. *Prosiding PPI -PD IPTN*: 139–146. [http://digilib.batan.go.id/ppin/katalog/file/BP-9\\_%5B\\_139-146\\_%5D.pdf](http://digilib.batan.go.id/ppin/katalog/file/BP-9_%5B_139-146_%5D.pdf).

- Taufiq, M., Sabarudin, A. & Mulyasuryani, A. 2016. Pengembangan dan Validasi Metode Destruksi Gelombang Mikro untuk Penentuan Logam Berat Kadmium dan Timbal dalam Cokelat dengan Spektroskopi Serapan Atom (SSA). *Alchemy : Journal of Chemistry*. 5(2): 2460–6871.
- Trisnawati, N.N. & Dewi, I.G.A.K.S.P. 2021. Validasi Metode Uji Merkuri Menggunakan *Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry* (ICPE) 9000. *Cakra Kimia*. 9: 24–28.
- Tuslinah, L., Winarti, P. & Zustika, D.S. 2022. Validasi Analisis Metode Logam Timbal (Pb) dalam Rumpun Laut menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 22(1): 23–28.
- Ullah, A.K.M., Maksud, M.A., Khan, S.R., Lutfi, L.N. & Shamshad, B.Q. 2017. Development and Validation of a GF-AAS Method and its Application for the Trace Level Determination of Pb, Cd, and Cr in Fish Feed Samples Commonly used in the Hatcheries of Bangladesh. *Journal of Analytical Science and Technology*. 8(1): 1-7. doi:10.1186/s40543-017-0124-y.
- Vicentino, P., Brum, D.M. & Cassella, R.J. 2015. Development of A Method for Total Hg Determination in Oil Samples by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry after its Extraction Induced by Emulsion Breaking. *Talanta*. 132: 733–738. doi:10.1016/j.talanta.2014.10.019.
- Yunaidi, Y., Rahmanta, A.P. & Wibowo, A. 2019. Aplikasi Pakan Pelet Buatan untuk Peningkatan Produktivitas Budidaya Ikan Air Tawar. *Jurnal Pemberdayaan: Publikasi Hasil Pengabdian Kepada Masyarakat*. 3(1): 45–54. doi:10.12928/jp.v3i1.621.