

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Timbal (Pb)

2.1.1. Karakteristik dan Sifat Timbal

Timbal (Pb) merupakan salah satu jenis logam berat yang sering juga disebut dengan istilah timah hitam. Timbal memiliki titik lebur yang rendah, mudah dibentuk, memiliki sifat kimia yang aktif sehingga biasa digunakan untuk melapisi logam agar tidak timbul perkaratan. Timbal adalah logam yang lunak berwarna abu-abu kebiruan mengkilat dan memiliki bilangan oksidasi +2 (Sunarya, 2007).



Gambar 1. Logam Timbal (Pb) (Temple, 2007)

Timbal mempunyai nomor atom 82 dengan berat atom 207,20. Titik leleh timbal adalah 1740°C dan memiliki massa jenis $11,34\text{ g/cm}^3$ (Widowati, 2008). Palar (1994) mengungkapkan bahwa logam Pb pada suhu $500\text{-}600^{\circ}\text{C}$ dapat menguap

dan membentuk oksigen di udara dalam bentuk timbal oksida (PbO). Dibawah ini merupakan tabel yang menunjukkan beberapa sifat fisika yang dimiliki timbal.

Tabel 1. Sifat-sifat fisika Timbal (Pb)

Sifat Fisika Timbal	Keterangan
Nomor atom	82
Densitas (g/cm^3)	11,34
Titik lebur ($^{\circ}\text{C}$)	327,46
Titik didih ($^{\circ}\text{C}$)	1.749
Kalor peleburan (kJ/mol)	4,77
Kalor penguapan (kJ/mol)	179,5
Kapasitas pada 25°C (J/mol.K)	26,65
Konduktivitas termal pada 300K (W/m K)	35,5
Ekspansi termal 25°C ($\mu\text{m/ m K}$)	28,9
Kekerasan (skala Brinell=Mpa)	38,6

Timbal merupakan salah satu logam berat yang sangat berbahaya bagi makhluk hidup karena bersifat karsinogenik, dapat menyebabkan mutasi, terurai dalam jangka waktu lama dan toksisitasnya tidak berubah (Brass & Strauss, 1981). Pb dapat mencemari udara, air, tanah, tumbuhan, hewan, bahkan manusia. Masuknya Pb ke tubuh manusia dapat melalui makanan dari tumbuhan yang biasa dikonsumsi manusia seperti padi, teh dan sayur-sayuran. Logam Pb terdapat di perairan baik secara alamiah maupun sebagai dampak dari aktivitas manusia. Logam ini masuk ke perairan melalui pengkristalan Pb di udara dengan bantuan air hujan. Selain itu, proses korofikasi dari batuan mineral juga merupakan salah satu jalur masuknya sumber Pb ke perairan (Palar, 1994).

Timbal secara alami terdapat sebagai timbal sulfida, timbal karbonat, timbal sulfat dan timbal klorofosfat (Faust & Aly, 1981). Kandungan Pb dari beberapa batuan

kerak bumi sangat beragam. Batuan erusif seperti granit dan riolit memiliki kandungan Pb kurang lebih 200 ppm.

Timbal (Pb) merupakan logam yang bersifat neurotoksin yang dapat masuk dan terakumulasi dalam tubuh manusia ataupun hewan, sehingga bahayanya terhadap tubuh semakin meningkat (Kusnoputranto, 2006). Menurut Underwood dan Shuttle (1999), Pb biasanya dianggap sebagai racun yang bersifat akumulatif dan akumulasinya tergantung levelnya. Hal itu menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pada ternak jika terdapat pada jumlah di atas batas ambang. Lebih lanjut Underwood dan Shuttle (1999) mencantumkan batas ambang untuk ternak unggas dalam pakannya, yaitu: batas ambang normal sebesar 1 – 10 ppm, batas ambang tinggi sebesar 20 – 200 ppm dan batas ambang toksik sebesar lebih dari 200 ppm. Timbal (Pb) menurut Lu (1995) dapat diserap dari usus dengan sistem transport aktif. Transport aktif melibatkan *carrier* untuk memindahkan molekul melalui membran berdasarkan perbedaan kadar atau jika molekul tersebut merupakan ion. Pada saat terjadi perbedaan muatan transport, maka terjadi pengikatan dan membutuhkan energi untuk metabolisme (Rahde, 1991).

2.1.2. Toksisitas Logam Timbal

Berdasarkan toksisitasnya, logam berat digolongkan ke dalam tiga golongan, yaitu:

1. Hg, Cd, Pb, As, Cu dan Zn yang mempunyai sifat toksik yang tinggi,
2. Cr, Ni dan Co yang mempunyai sifat toksik menengah
3. Mn dan Fe yang mempunyai sifat toksik rendah

(Connel and Miller, 1995)

Toksisitas logam berat sangat dipengaruhi oleh faktor fisika, kimia dan biologi lingkungan. Beberapa kasus kondisi lingkungan tersebut dapat mengubah laju absorpsi logam dan mengubah kondisi fisiologis yang mengakibatkan berbahaya pengaruh logam. Akumulasi logam berat Pb pada tubuh manusia yang terjadi secara terus menerus dapat mengakibatkan anemia, kemandulan, penyakit ginjal, kerusakan syaraf dan kematian.

Timbal dalam bentuk anorganik dan organik memiliki toksitas yang sama pada manusia. Misalnya pada bentuk organik seperti tetraetil-timbal dan tetrametil-timbal (TEL dan TML). Timbal dalam tubuh dapat menghambat aktivitas kerja enzim. Namun yang paling berbahaya adalah toksitas timbal yang disebabkan oleh gangguan absorpsi kalsium Ca. Hal ini menyebabkan terjadinya penarikan deposit timbal dari tulang tersebut (Darmono, 2001).

Timbal adalah logam toksik yang bersifat kumulatif sehingga mekanisme toksitasnya dibedakan menurut beberapa organ yang dipengaruhinya, yaitu sebagai berikut :

- a. Sistem hemopoetik: timbal akan menghambat sistem pembentukan hemoglobin sehingga menyebabkan anemia
- b. Sistem saraf pusat dan tepi: dapat menyebabkan gangguan ensefalopati dan gejala gangguan saraf perifer
- c. Sistem ginjal : dapat menyebabkan aminoasiduria, fosfaturia, glukosuria, nefropati, fibrosis dan atrofi glomerular
- d. Sistem gastro-intestinal: dapat menyebabkan kolik dan konstipasi

- e. Sistem kardiovaskular: menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler pembuluh darah
- f. Sistem reproduksi: dapat menyebabkan kematian janin pada wanita dan hipospermi dan teratospermia (Darmono, 2001).

Di perairan, timbal ditemukan dalam bentuk terlarut dan tersuspensi. Kelarutan timbal cukup rendah sehingga kadar timbal dalam air relatif sedikit. Bahan bakar yang mengandung timbal juga memberikan kontribusi yang berarti bagi keberadaan timbal dalam air (Effendi, 2003).

2.1.3. Siklus Biogeokimia Logam Berat

Biogeokimia adalah salah satu disiplin ilmu alam yang mempelajari tentang proses-proses kimia, fisika, geologi, dan biologi yang saling terkait yang membentuk komposisi dari lingkungan alam (yang masuk di dalam sini antara lain biosfer, hidrosfer, pedosfer, atmosfer, dan litosfer). Secara khusus, biogeokimia adalah studi tentang siklus dari unsur-unsur kimia, seperti karbon, nitrogen, air, fosfor, dll serta interaksi mereka dan penggabungan ke dalam makhluk hidup yang diangkut melalui sistem skala bumi biologis dalam ruang melalui waktu. Siklus biogeokimia merupakan suatu - siklus senyawa kimia yang mengalir dari komponen biotik dan abiotik dan kemudian kembali lagi ke komponen biotik, komponen abiotik ke biotik dan kembali lagi ke komponen abiotik. Siklus unsur-unsur tersebut tidak hanya melalui organisme, tetapi juga melibatkan reaksi - reaksi kimia dalam lingkungan abiotik sehingga disebut siklus biogeokimia. Fungsi siklus biogeokimia adalah sebagai siklus materi yang mengembalikan semua unsur-unsur kimia yang sudah terpakai oleh semua yang

ada di bumi baik komponen biotik maupun komponen abiotik, sehingga kelangsungan hidup di bumi dapat terjaga.

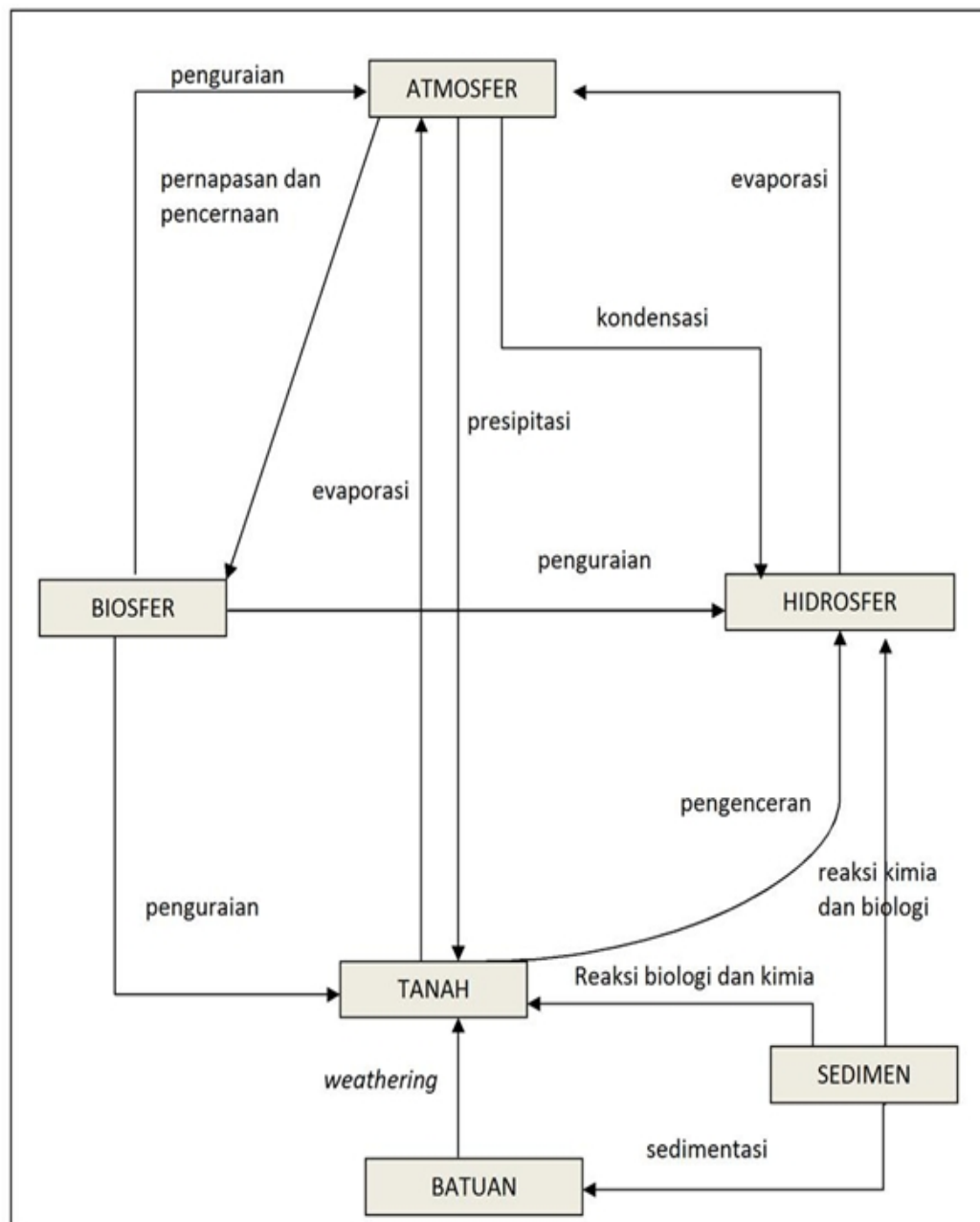
Menurut Huang (1987) ada tiga kompartemen yang terlihat dalam siklus biogeokimia logam dalam air, yaitu:

1. Kompartemen logam yang terlarut adalah ion logam bebas, kompleks, dan koloidal ikatan senyawanya.
2. Kompartemen partikel abiotik, terdiri atas bahan kimia organik dan anorganik.
3. Kompartemen partikel biotik, terdiri atas fitoplankton dan bakteri di dalam laut dangkal dan laut dalam, daerah pantai, serta muara sungai yang menempel pada tanaman.

Tingkah laku logam dalam lingkungan perairan sangat bergantung pada karakterisasi logam yang biasa disebut spesiasi logam. Spesiasi logam akan mempengaruhi hadirnya logam dalam jaringan biologi (*bioavailability*) dan toksisitasnya terhadap biota, transportasi dan mobilisasi, serta interaksi dengan tanah. Seperti mobilitas, bioavailabilitas, toksisitas, dan nasib dari lingkungan semuanya dikendalikan oleh transformasi biogeokimia (Borch *et al*, 2010).

Siklus Biogeokimia dari logam berat dapat dipercepat karena kegiatan dari manusia. Akumulasi dan pergerakan dari ion logam dapat mengubah kondisi lingkungan yang menimbulkan gangguan struktur dan fungsi dari ekosistem (Fedotov, 2008). Logam berat masuk melalui dua proses alamiah yaitu agroekosistem dan antropogenik. Proses antropogenik mencakup pemasukan logam berat melalui penggunaan pupuk, bahan organik, limbah industri, dan lain

lain. Proses tersebut memberikan kontribusi yang bervariasi dari logam berat ke dalam agroekosistem. Beberapa tanah telah ditemukan memiliki beberapa kandungan logam berat yang merupakan racun bagi tanaman dan tumbuhan liar, jumlahnya sangat tinggi karena elemen tersebut merupakan elemen utama (Krishnamurti *et al*, 1995).



Gambar 2. Daur Biogeokimia Logam Berat dalam Lingkungan (Borch, 2010)

2.1.4. Timbal (Pb) Pada Tanaman

Kerusakan karena pencemaran dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan toksik dalam tubuh tumbuhan, perubahan pH, peningkatan atau penurunan aktivitas enzim, rendahnya kandungan asam askorbat di daun, tertekannya fotosintesis, peningkatan respirasi, produksi bahan kering rendah, perubahan permeabilitas, terganggunya keseimbangan air dan penurunan kesuburannya dalam waktu yang lama. Gangguan metabolisme berkembang menjadi kerusakan kronis dengan konsekuensi tak beraturan. Tumbuhan akan berkurang produktivitasnya dan kualitas hasilnya juga rendah (Sitompul dan Guritno, 1995).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pencemaran mengakibatkan menurunnya pertumbuhan dan produksi tanaman serta diikuti dengan gejala yang tampak (*visible symptoms*). Kerusakan tanaman karena pencemaran berawal dari tingkat biokimia (gangguan proses fotosintesis, respirasi, serta biosintesis protein dan lemak), selanjutnya tingkat ultrastruktural (disorganisasi sel membran), kemudian tingkat sel (dinding sel, mesofil, pecahnya inti sel) dan diakhiri dengan terlihatnya gejala pada jaringan daun seperti klorosis dan nekrosis (Malhotra and Khan, 1984 dalam Treshow, 1989).

Tanaman yang tumbuh di daerah dengan tingkat pencemaran tinggi dapat mengalami berbagai gangguan pertumbuhan serta rawan akan berbagai penyakit, antara lain klorosis, nekrosis, dan bintik hitam. Partikulat yang terdeposisi di permukaan tanaman dapat menghambat proses fotosintesis (Fatoba and Emem, 2008). Menurut Gothberg (2008), tingginya kandungan Pb pada jaringan tumbuhan menyebabkan berkurangnya kadar klorofil daun sehingga proses

fotosintesis terganggu, selanjutnya berakibat pada berkurangnya hasil produksi dari suatu tumbuhan.

Tanaman mampu mengabsorpsi Pb sehingga dapat berperan dalam membersihkan dari polusi. Namun demikian, keefektifan tanaman dalam menyerap polutan sampai batas tertentu akan semakin berkurang dengan peningkatan konsentrasi polutan. Pada suatu batas ketahanan masing-masing jenis, tanaman juga menampakkan gejala kerusakan akibat polusi. Dampak lanjutannya adalah terganggunya fungsi tanaman dalam lingkungan. Selain itu, kerusakan tanaman akibat terpapar Pb juga menyebabkan pertumbuhan dan penampilan tanaman yang tidak optimal, berupa terjadinya nekrosis, klorosis dan terhambatnya pertumbuhan tanaman. Kondisi tersebut menyebabkan penampilan tanaman yang tidak estetik. Kemampuan tanaman mereduksi Pb sangat bervariasi menurut jenisnya (Kurnia dkk., 2004).

Menurut Treshow *et al.* (1989), pertumbuhan tanaman terhambat karena terganggunya proses fotosintesis akibat kerusakan jaringan daun. Hal tersebut ditunjang oleh penelitian Warsita (1994) yang menunjukkan bahwa pencemaran udara menyebabkan penurunan kandungan klorofil-a dan klorofil-b tanaman. Penurunan tersebut disebabkan zat pencemar merusak jaringan polisade dan bunga karang yang merupakan jaringan yang banyak mengandung kloroplas.

Masuknya partikel timbal ke dalam jaringan daun sangat dipengaruhi oleh ukuran dan jumlah dari stomata. Semakin besar ukuran dan semakin banyak jumlah stomatanya maka semakin besar pula penyerapan timbal yang masuk ke dalam daun. Meskipun mekanisme masuknya timbal ke dalam jaringan daun

berlangsung secara pasif, tetapi ini didukung pula oleh bagian yang ada di dalam tanaman dan daun yang merupakan bagian yang paling kaya akan unsur-unsur kimia (Widagdo, 2005). Dengan demikian kemungkinan akumulasi timbal didalam jaringan daun akan lebih besar. Timbal ini akan terakumulasi didalam jaringan *polisade* (jaringan pagar). Celah stomata mempunyai panjang sekitar 10 μm dan lebar antara 2 –7 μm . Oleh karena ukuran Pb yang demikian kecil, yaitu kurang dari 4 μm dan rerata 0,2 μm maka partikel akan masuk ke dalam daun lewat celah stomata serta menetap dalam jaringan daun dan menumpuk di antara celah sel jaringan pagar/*polisade* dan atau jaringan bunga karang/*spongi tissue* (Smith, 1981).

Tumbuhan dapat tercemar logam berat melalui penyerapan akar dari tanah atau melalui stomata daun dari udara. Faktor yang dapat mempengaruhi kadar timbal dalam tumbuhan yaitu jangka waktu kontak tumbuhan dengan timbal, kadar timbal dalam perairan, morfologi dan fisiologi serta jenis tumbuhan. Dua jalan masuknya timbal ke dalam tumbuhan yaitu melalui akar dan daun. Timbal setelah masuk ke dalam tumbuhan akan diikat oleh membran sel, mitokondria dan kloroplas, sehingga menyebabkan kerusakan fisik. Kerusakan tersembunyi dapat berupa penurunan penyerapan air, pertumbuhan yang lambat, atau pembukaan stomata yang tidak sempurna (Hutagalung, 1982).

Kemampuan tanaman menyerap Pb beragam antar jenis tanaman. Menurut Dahlan (2004), Damar (*Agathis alba*), Mahoni (*Swetenia macrophylla*), Jamuju (*Podocarpus imbricatus*), Pala (*Mirystica fragrans*), Asam landi (*pithecelobium dulce*), dan Johal (*Cassia siamea*) memiliki kemampuan sedang sampai tinggi

dalam menurunkan Pb di udara. Glodogan tiang (*Polyalthea longifolia*), Keben (*baringtonia asiatica*), dan Tanjung (*Mimusops elengi*) memiliki kemampuan menyerap Pb rendah namun tidak peka terhadap pencemaran udara, sedangkan Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea*) dan Kesumba (*Bixa orellana*) memiliki kemampuan rendah dan tidak tahan terhadap pencemaran udara

2.1.5. Dampak Timbal (Pb) Terhadap Morfologi dan Fisiologi Tumbuhan

Menurut Lepp (1981) timbal (Pb), yang diserap oleh tanaman akan memberikan efek buruk apabila kepekataannya berlebihan. Pengaruh yang ditimbulkan antara lain dengan adanya penurunan pertumbuhan dan produktivitas tanaman serta kematian. Penurunan pertumbuhan dan produktivitas pada banyak kasus menyebabkan tanaman menjadi kerdil dan klorosis. Kepekaan logam berat pada daun memperlihatkan batas toksisitas terhadap tanaman yang berbeda-beda. Toksisitas timah hitam menyebabkan suatu mekanisme yang melibatkan klorofil. Pelepasan timah hitam ke dalam sitoplasma akan menghambat dua enzim yaitu Asam Delta Amino Levulenat Dehidratase (ALAD) dan Profobilinogenase yang terlibat dalam biogenesis klorofil (Flanagan *et al.* 1980).

Penelitian Sembiring dan Sulistyawati (2006), menunjukkan terjadi penurunan kadar klorofil pada daun *Swietenia macrophylla* yang terjadi bersamaan dengan peningkatan kadar Pb. Perubahan kandungan klorofil akibat meningkatnya konsentrasi Pb terkait dengan rusaknya struktur kloroplas. Pembentukan struktur kloroplas sangat dipengaruhi oleh nutrisi mineral seperti Mg dan Fe. Masuknya logam berat secara berlebihan dalam tumbuhan, misalnya logam berat Pb akan

mengurangi asupan Mg dan Fe sehingga menyebabkan perubahan pada volume dan jumlah kloroplas (Kovacs, 1992).

2.2. Tomat

2.2.1. Tanaman Tomat

Tomat dengan nama botani *Lycopersicum esculentum* Mill merupakan sayuran buah yang berasal dari Peru-Ekuador yang menyebar ke beberapa daerah di Benua Amerika dan selanjutnya berkembang di Meksiko. Pada tahun 1811 tomat telah dijumpai di Indonesia terutama dataran tinggi (Wijonarko, 1990).

Para ahli botani mengklasifikasikan tanaman tomat sebagai berikut:

Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Tubiflariae
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Lycopersicon</i> atau <i>Lycopersicum</i>
Spesies	: <i>Lycopersicon esculentum</i> L. korst atau <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.

Menurut Tugiyono (2007), tanaman tomat adalah tumbuhan setahun yang berbentuk perdu atau semak dan termasuk ke dalam golongan tanaman berbunga (*angiospermae*). Bentuk daunnya bercelah menyirip tanpa *stippelae* (daun penumpu), jumlah duannya ganjil antara 5-7 helai. Batang tomat tidak sekeras tanaman tahun tetapi cukup kuat dan warna batang hijau dan berbentuk persegi empat sampai bulat. Pada permukaan batangnya ditumbuhi banyak rambut halus terutama di bagian yang berwarna hijau. Tanaman tomat memiliki akar tunggang, akar cabang, serta akar serabut yang berwarna keputih-putihan dan berbau khas.

Perakaran tanaman tidak terlalu dalam, menyebar ke semua arah hingga kedalaman rata-rata 30-40 cm, namun dapat mencapai kedalaman hingga 60-70 cm. Akar tanaman tomat berfungsi untuk menopang berdirinya tanaman serta menyerap air dan unsur hara dari dalam tanah (Redaksi Agromedia, 2007).

Batang tanaman tomat bentuknya bulat dan membengkok pada buku-buku. Bagian yang masih muda berambut biasa dan ada yang berkelenjar. Mudah patah, dapat naik bersandar pada turus atau merambat pada tali, namun harus dibantu dengan beberapa ikatan. Tanaman tomat dibiarkan melata dan cukup rimbun menutupi tanah. Bercabang banyak sehingga secara keseluruhan berbentuk perdu (Rismunandar, 2001). Daun tomat berbentuk oval dengan panjang 20-30 cm. Tepi daun bergerigi dan membentuk celah-celah yang menyirip. Umumnya, daun tomat tumbuh di dekat ujung dahan atau cabang, memiliki warna hijau, dan berbulu (Redaksi Agromedia, 2007). Bunga tanaman tomat berwarna kuning dan tersusun dalam dompolan dengan jumlah 5-10 bunga per dompolan atau tergantung dari varietasnya (Wiryanta, 2004).

Buah tomat adalah buah buni, selagi masih muda berwarna hijau dan berbulu serta relatif keras, setelah tua berwarna merah muda, merah, atau kuning, cerah dan mengkilat, serta relatif lunak. Bentuk buah tomat beragam: lonjong, oval, pipih, meruncing, dan bulat. Diameter buah tomat antara 2-15 cm, tergantung varietasnya. Jumlah ruang di dalam buah juga bervariasi, ada yang hanya dua seperti pada buah tomat cherry dan tomat roma atau lebih dari dua seperti tomat marmade yang beruang delapan.



Gambar 3. Buah Tomat (Wiryata, 2004)

Pada buah masih terdapat tangkai bunga yang berubah fungsi menjadi sebagai tangkai buah serta kelopak bunga yang beralih fungsi menjadi kelopak bunga (Wiryanta, 2004). Biji tomat berbentuk pipih, berbulu, dan berwarna putih, putih kekuningan atau coklat muda. Panjangnya 3-5 mm dan lebar 2-4 mm. Biji saling melekat, diselimuti daging buah, dan tersusun berkelompok dengan dibatasi daging buah (Redaksi Agromedia, 2007).

2.2.2. Syarat tumbuh

Tomat bisa ditanam pada semua jenis tanah, seperti andosol, regosol, latosol, ultisol, dan grumusol. Namun demikian, tanah yang paling ideal dari jenis lempung berpasir yang subur, gembur, memiliki kandungan bahan organik yang tinggi, serta mudah mengikat air (*porous*). Jenis tanah berkaitan dengan peredaran dan ketersediaan oksigen di dalam tanah. Ketersediaan oksigen penting bagi pernapasan akar yang memang rentan terhadap kekurangan oksigen. Kadar oksigen yang mencukupi di sekitar akar bisa meningkatkan produksi buah. Oksigen di sekitar akar bisa juga meningkatkan penyerapan unsur hara fosfat, kalium, dan besi (Redaksi Agromedia, 2007). Untuk pertumbuhannya yang baik, tanaman tomat membutuhkan tanah yang gembur, kadar keasaman (pH) antara 5-6, tanah sedikit mengandung pasir, dan banyak mengandung humus, serta

pengairan yang teratur dan cukup mulai tanam sampai waktu tanaman mulai dapat dipanen (Redaksi Agromedia, 2007).

2.3. Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

2.3.1 Prinsip Dasar

Spektrofotometri serapan atom adalah suatu metode yang digunakan untuk mendeteksi atom-atom logam dalam fase gas. Metode ini seringkali mengandalkan nyala untuk mengubah logam dalam larutan sampel menjadi atom-atom logam berbentuk gas yang digunakan untuk analisis kuantitatif dari logam dalam sampel (Rohman, 2007).

Prinsip dari spektrofotometri adalah terjadinya interaksi antara energi dan materi. Pada spektroskopi serapan atom terjadi penyerapan energi oleh atom sehingga atom mengalami transisi elektronik dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi. Dalam metode ini, analisa didasarkan pada pengukuran intensitas sinar yang diserap oleh atom sehingga terjadi eksitasi. Untuk dapat terjadinya proses absorpsi atom diperlukan sumber radiasi monokromatik dan alat untuk menguapkan sampel sehingga diperoleh atom dalam keadaan dasar dari unsur yang diinginkan. Spektrofotometri serapan atom merupakan metode analisis yang tepat untuk analisis analit terutama logam-logam dengan konsentrasi rendah (Pecok, 1976).

Spektrofotometri serapan atom (SSA) didasarkan pada absorpsi atom pada suatu unsur yang dapat mengabsorpsi energi pada panjang gelombang tertentu. Banyak energi sinar yang diabsorpsi berbanding lurus dengan jumlah atom yang mengabsorpsi. Atom terdiri atas inti atom yang mengandung proton bermuatan

positif dan neutron berupa partikel netral, dimana inti atom dikelilingi oleh elektron bermuatan negatif yang memiliki tingkat energi berbeda. Jika energi diabsorpsi oleh atom, maka elektron yang berada paling luar (elektron valensi) akan tereksitasi dari keadaan dasar atau tingkat energi yang lebih rendah (*ground state*) ke keadaan tereksitasi yang memiliki tingkat energi yang lebih tinggi (*excited site*). Jumlah energi yang dibutuhkan untuk memindahkan elektron ke tingkat energi tertentu dikenal sebagai potensial eksitasi untuk tingkat energi itu. Pada waktu kembali ke keadaan dasar, elektron melepaskan energi panas atau energi sinar (Clark, 1979).

2.3.2. Analisis Kuantitatif

Apabila cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada suatu sel yang mengandung atom-atom bebas yang bersangkutan maka sebagian cahaya tersebut akan diserap dan intensitas penyerapan akan berbanding lurus dengan banyaknya atom bebas logam yang berada pada sel. Hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi diturunkan dari:

Hukum Lambert: bila suatu sumber sinar monokromatik melewati medium transparan, maka intensitas sinar yang diteruskan berkurang dengan bertambahnya ketebalan medium yang mengabsorpsi.

Hukum Beer: Intensitas sinar yang diteruskan berkurang secara eksponensial dengan bertambahnya konsentrasi spesi yang menyerap sinar tersebut.

Dari kedua hukum tersebut diperoleh suatu persamaan:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (1)$$

Dimana: ϵ = absortivitas molar
 b = panjang medium
 c = konsentrasi atom-atom yang menyerap sinar
 A = absorbansi

Dari persamaan di atas, dapat disimpulkan bahwa absorbansi cahaya berbanding lurus dengan konsentrasi atom (Day & Underwood, 1989).

2.3.3. Instrumentasi Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

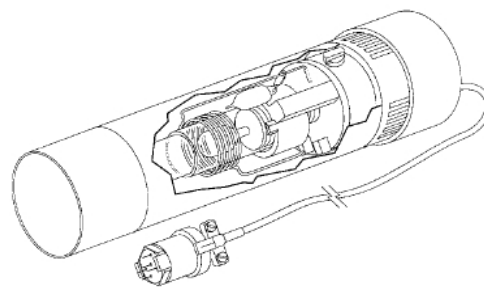
Spektrofotometer Serapan atom memiliki komponen-komponen sebagai berikut (Slavin, 1987)

a. Sumber Sinar

Merupakan sistem emisi yang diperlukan untuk menghasilkan sinar yang energinya akan diserap oleh atom bebas. Sumber radiasi haruslah bersifat sumber yang kontinyu. Seperangkat sumber yang dapat memberikan garis emisi yang tajam dari suatu unsur yang spesifik tertentu dengan menggunakan lampu pijar *Hollow cathode*. *Hallow Cathode Lamp* terdiri dari katoda cekung yang silindris yang terbuat dari unsur yang sama dengan yang akan dianalisis dan anoda yang terbuat dari tungsten. Dengan pemberian tegangan pada arus tertentu, logam mulai memijar dan atom-atom logam katodanya akan teruapkan dengan pemercikan. Atom akan tereksitasi kemudian mengemisikan radiasi pada panjang gelombang tertentu. Sumber radiasi lain yang sering dipakai adalah "*Electrodless*

Dischcarge Lamp” lampu ini mempunyai prinsip kerja hampir sama dengan *Hallow Cathode Lamp* (lampu katoda cekung), tetapi mempunyai *output* radiasi lebih tinggi dan biasanya digunakan untuk analisis unsur-unsur As dan Se, karena lampu HCL untuk unsur-unsur ini mempunyai signal yang lemah dan tidak stabil yang bentuknya dapat dilihat pada Gambar 4.

Berikut ini adalah gambar *Electrodless Dischcarge Lamp* :



Electrodeless discharge lamp.

Gambar 4. *Electrodless Dischcarge Lamp*

b. Sistem pengatoman

Merupakan bagian yang penting karena pada tempat ini senyawa akan dianalisa. Pada sistem pengatoman, unsur-unsur yang akan dianalisa diubah bentuknya dari bentuk ion menjadi bentuk atom bebas. Ada beberapa jenis sistem pengatoman yang lazim digunakan pada setiap alat AAS, antara lain :

1. Sistem pengatoman dengan nyala api

Menggunakan nyala api untuk mengubah larutan berbentuk ion menjadi atom bebas. Ada 2 bagian penting pada sistem pengatoman dengan nyala api, yaitu sistem pengabut (nebulizer) dan sistem pembakar (burner), sehingga sistem ini sering disebut sistem burner-nebulizer. Sebagai bahan bakar yang

menghasilkan api merupakan campuran dari gas pembakar dengan oksidan dan penggunaannya tergantung dari suhu nyala api yang dikehendaki.

2. Sistem pengatoman dengan tungku grafit

Keuntungan sistem ini jika dibandingkan dengan sistem pengatoman nyala api adalah sampel yang dipakai lebih sedikit, tidak memerlukan gas pembakar, suhu yang ada di burner dapat dimonitor dan lebih peka.

3. Sistem pengatoman dengan pembentukan hidrida

Sistem ini hanya dapat diterapkan pada unsur-unsur yang dapat membentuk hidrida, dimana senyawa hidrida dalam bentuk uapnya akan menyerap sinar dari HCL. Sistem ini biasanya dilakukan dengan mereduksi unsur sehingga menjadi valensi yang lebih rendah, kemudian dibentuk sebagai hidrida. Sistem ini banyak dilakukan untuk analisa unsur-unsur seperti As, Bi dan Se.

4. Sistem pengatoman dengan uap dingin

Sistem ini hanya dilakukan untuk analisa unsur Hg, karena Hg mempunyai tekanan uap yang tinggi, sehingga pada suhu kamar Hg akan berada pada kesetimbangan antara fasa uap dan fasa cair. Cara menganalisis Hg dengan mereduksi merkuri (Hg^{2+}) menjadi merkuro (Hg_2^{2+}), kemudian uapnya dialirkan secara kontinu kedalam sel serapan yang ditempatkan diatas burner (tidak dipanaskan) dan penyerapan terjadi karena Hg berbentuk uap.

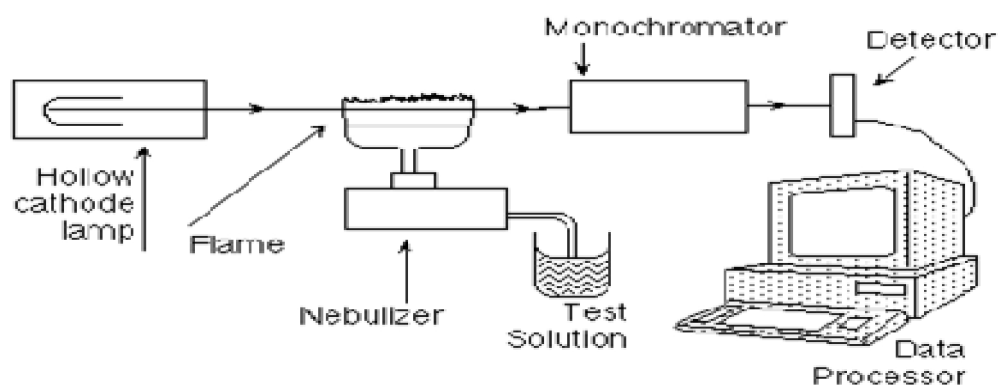
c. Monokromator

Monokromator merupakan alat yang berfungsi untuk memisahkan radiasi yang tidak diperlukan dari spektrum radiasi lain yang dihasilkan oleh *Hallow Cathode Lamp*.

d. Detektor

Fungsi detektor adalah mengubah energi sinar menjadi energi listrik, dimana energi listrik yang dihasilkan digunakan untuk mendapatkan data. Detektor SSA tergantung pada jenis monokromatornya, jika monokromatornya sederhana yang biasa dipakai untuk analisa alkali, detektor yang digunakan adalah *barier layer cell*. Tetapi pada umumnya yang digunakan adalah detektor *photomultiplier tube*.

Metode SSA sangat tepat untuk analisa zat pada konsentrasi rendah. Logam-logam yang membentuk campuran kompleks dapat dianalisa dan selain itu tidak selalu diperlukan sumber energi yang besar. Sensitivitas dan batas deteksi merupakan parameter yang sering digunakan dalam SSA. Keduanya dapat bervariasi dengan perubahan temperatur nyala, dan lebar pita spektra.



Gambar 5. Skema Instrumentasi Spektrofotometer Serapan Atom (Slavin, 1987).

2.3.4. Gangguan-gangguan analisis pada Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Menurut Ismono (1984) beberapa gangguan yang sering terjadi pada SSA adalah sebagai berikut:

1. Gangguan Ionisasi

Gangguan ini biasa terjadi pada unsur alkali dan alkali tanah dan beberapa unsur yang lain karena unsur-unsur tersebut mudah terionisasi dalam nyala. Dalam analisis dengan FES dan AAS yang diukur adalah emisi dan serapan atom yang tidak terionisasi. Oleh sebab itu dengan adanya atom-atom yang terionisasi dalam nyala akan mengakibatkan sinyal yang ditangkap detektor menjadi berkurang. Namun demikian gangguan ini bukan gangguan yang sifatnya serius, karena hanya sensitivitas dan linearitasnya saja yang terganggu. Gangguan ini dapat diatasi dengan menambahkan unsur-unsur yang mudah terionisasi ke dalam sampel sehingga akan menahan proses ionisasi dari unsur yang dianalisis.

2. Pembentukan Senyawa Refraktori

Gangguan ini diakibatkan oleh reaksi antara analit dengan senyawa kimia, biasanya anion yang ada dalam larutan sampel sehingga terbentuk senyawa yang tahan panas (*refractory*). Sebagai contoh, pospat akan bereaksi dengan kalsium dalam nyala menghasilkan kalsium piropospat (CaP_2O_7). Hal ini menyebabkan absorpsi ataupun emisi atom kalsium dalam nyala menjadi berkurang. Gangguan ini dapat diatasi dengan menambahkan stronsium klorida atau lantanum nitrat ke dalam larutan. Kedua logam ini lebih mudah

bereaksi dengan pospat dihanding kalsium sehingga reaksi antara kalsium dengan pospat dapat dicegah atau diminimalkan. Gangguan ini juga dapat dihindari dengan menambahkan EDTA berlebihan. EDTA akan membentuk kompleks chelate dengan kalsium, sehingga pembentukan senyawa refraktori dengan pospat dapat dihindarkan. Selanjutnya kompleks Ca-EDTA akan terdissosiasi dalam nyala menjadi atom netral Ca yang menyerap sinar. Gangguan yang lebih serius terjadi apabila unsur-unsur seperti: Al, Ti, Mo, V dan lain-lain bereaksi dengan O dan OH dalam nyala menghasilkan logam oksida dan hidroksida yang tahan panas. Gangguan ini hanya dapat diatasi dengan menaikkan temperatur nyala, sehingga nyala yang umum digunakan dalam kasus semacam ini adalah nitrous oksida-asetilen.

3. Gangguan Fisik Alat

Yang dianggap sebagai gangguan fisik adalah semua parameter yang dapat mempengaruhi kecepatan sampel sampai ke nyala dan sempurnanya atomisasi. Parameter-parameter tersebut adalah: kecepatan alir gas, berubahnya viskositas sampel akibat temperatur atau solven, kandungan padatan yang tinggi, perubahan temperatur nyala dan lain-lain. Gangguan ini biasanya dikompensasi dengan lebih sering membuat kalibrasi (standarisasi).

2.4. Validasi Metode

Validasi metode merupakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode analisis digunakan untuk

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

Parameter validasi metode yang sering digunakan dalam analisis antara lain :

2.4.1. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Pada metode linieritas ada beberapa parameter statistik yaitu koefisien korelasi, residual plot dan residual standar deviasi.

Linearitas suatu metode adalah ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dan konsentrasi (x) dengan persamaan $y = a + bx$. Hubungan linear yang dikatakan ideal dapat dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 yang bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan adalah sebesar $\geq 0,9970$ (ICH, 1995), $\geq 0,97$ (SNI) atau $\geq 0,9980$.

2.4.2. Selektivitas

Selektivitas adalah kemampuan untuk mengukur suatu target dari suatu analit dengan keberadaan komponen-komponen lain pada matrik sampel tanpa mempengaruhi hasil analisis. Selektivitas merupakan parameter kualitatif yang digunakan untuk menguji suatu metode dapat dikatakan selektif atau tidak bila dalam pengukuran suatu sampel A dengan keberadaan B, selanjutnya dilakukan

evaluasi pengaruh keberadaan B terhadap sampel dengan membandingkan nilai rata-rata dan standar deviasi dari hasil keduanya.

Metode yang digunakan dalam pengujian hipotesisnya, yaitu dengan analisis ragam, dengan menggunakan sebaran t atau dikenal dengan uji-t dan distribusi F atau uji-F. Pada uji-t yaitu membandingkan dua nilai rata-rata, setelah itu nilai t dibandingkan dengan nilai t tabel dengan tingkat kepercayaan biasanya 95% dan derajat kebebasan yang sama. Apabila $t_{hitung} > t_{tabel}$ berarti terdapat perbedaan yang nyata pada kadar rata-rata antar dua populasi tersebut sebaliknya apabila $t_{hitung} < t_{tabel}$, maka tidak ada perbedaan yang berarti pada setiap pengukuran. Sedangkan pada uji-F yaitu membandingkan dua standar deviasi yang kemudian dibandingkan dengan nilai F tabel dengan tingkat kepercayaan biasanya 95% dan derajat kebebasan yang sama. Wibisono (2005) menyatakan bahwa apabila dalam analisa nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada standar deviasi antar analisis, namun sebaliknya apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$, maka tidak ada perbedaan yang berarti dari standar deviasi pada setiap pengukuran.

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

Limit of Detection atau batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi unsur dalam mg/L, yang memberikan pembacaan sebanding dengan 3 kali deviasi standar dari serapan yang diukur pada kondisi blanko.

Batas deteksi dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{LOD} = 3 \times \text{SD} \quad (2)$$

Keterangan :

LOD : Limit deteksi

SD : Simpangan baku

Menurut WHO (1992), *Limit of Quantification* atau batas kuantifikasi diartikan sebagai parameter pada analisis sekelumit yang diartikan sebagai kuantitasi terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Untuk penentuan limit kuantifikasi dapat digunakan rumus :

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{SD} \quad (3)$$

Keterangan :

LOQ : Limit kuantifikasi

SD : Simpangan baku respon analitik dari blanko

2.4.4. Akurasi

Akurasi adalah suatu kedekatan atau kesesuaian antara hasil suatu pengukuran dan nilai benar dari kuantitas yang diukur atau suatu pengukuran posisi yaitu seberapa dekat hasil pengukuran dengan nilai benar yang diperkirakan. Menurut akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan.

Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Mean}}{\text{Spike Level}} \times 100 \% \quad (4)$$

Keterangan :

Mean = Nilai rata – rata

Spike Level = Konsentrasi *Reference Material* (larutan yang telah diketahui konsentrasinya)

2.4.5. Presisi

Keseksamaan atau presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi merupakan ukuran derajat keterulangan dari metode analisis yang memberikan hasil yang sama pada beberapa perulangan.

Presisi dinyatakan sebagai *Relative Standar Deviation* (RSD) dan limit (r).

Penentuan simpangan baku (SD) dan simpangan baku relatif (RSD) dilakukan pada pengukuran sampel dengan pengulangan sebanyak 3 kali. RSD ditentukan dari hasil replikasi pengujian dibawah kondisi yang ditentukan sedangkan limit mewakili maksimum toleransi terhadap perbedaan antar duplikasi pada tingkat probabilitas tertentu. RSD dan limit dinyatakan melalui persamaan sebagai berikut :

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

$$\text{Limit} = 2.772 \times \text{SD} \quad (6)$$

Keterangan :

SD = Simpangan baku dari sampel

$\bar{M}$ = Nilai rata-rata