

Determination of Arsenic Levels in *Spirulina sp.* Food Supplement using Atomic Absorption Spectrophotometry

Desy Nurlela Saanun¹, Dedi Hanwar¹

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Surakarta

 dedi.hanwar@ums.ac.id

Abstract

Spirulina is a blue-green algae and contains many nutrients and is used as a food supplement. Products originating from the sea need to be analyzed for their metal contamination content. This study was conducted to determine the contamination of arsenic in the Spirulina sp food supplement. The sample was destructed by the wet destruction method using HNO₃ and H₂O₂. Arsenic concentration with atomic absorption spectrophotometry was read at λ 193.7 nm and the validation included linearity, repeatability, intermediate precision, accuracy, LOD, and LOQ. The validation results shown the atomic absorption spectrophotometry method have met the validation acceptability requirements by the Official Analytical Chemical Expert Association (AOAC). Linearity shows $r = 1$. RSD of 4.42% for repeatability and 5.24% for intermediate precision. Accuracy showed a recovery of 95.40% and RSD of 6.71%. LOD and LOQ were 0.012036 ppm and 0.036471 ppm. Arsenic levels in dietary supplements of Spirulina was 0.0665 ppm.

Keywords: SSA, Arsenic, Spirulina

Penetapan Kadar Arsen Pada Suplemen Makanan *Spirulina sp.* Secara Spektrofotometri Serapan Atom

Abstrak

Spirulina adalah alga hijau-biru dan mengandung banyak gizi dan digunakan sebagai suplemen makanan. Produk-produk yang berasal dari laut perlu dianalisis kandungan cemaran logamnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui cemaran logam arsen dalam suplemen makanan Spirulina sp. Sampel didestruksi dengan metode destruksi basah yang menggunakan HNO₃ dan H₂O₂. Penetapan kadar arsen dengan spektrofotometri serapan atom (SSA) dibaca pada λ 193,7 nm dan dilakukan validasi meliputi linearitas, rpitabilitas, presisi antara, akurasi, LOD, dan LOQ. Hasil menunjukkan bahwa berdasarkan hasil validasi metode SSA telah memenuhi syarat keberterimaan validasi menurut Association of Official Analytical Chemist (AOAC). Linearitas menunjukkan $r = 1$. RSD sebesar 4,42% untuk rpitabilitas dan 5,24% untuk presisi antara. Akurasi menunjukkan recovery sebesar 95,40% dan RSD sebesar 6,71%. LOD dan LOQ masing-masing sebesar 0,012036 ppm dan 0,036471 ppm. Kadar rata-rata arsen dalam suplemen makanan Spirulina sp. adalah 0,0665 ppm.

Kata kunci: SSA, Arsen, Spirulina

1. Pendahuluan

Spirulina merupakan sumber yang mengandung banyak gizi yang meliputi vitamin B-kompleks, protein, mineral (besi, kalsium, fosfor, magnesium, seng, natrium, kalium, tembaga [1], asam gamma-linolenat, beta-karoten, dan vitamin E. Saat ini spirulina telah dijadikan sebagai terapi karena mengandung banyak gizi [2]. Salah satu produk spirulina yang bahan utamanya dibudidaya dalam negeri berada di Teluk Awur, Jepara. Adanya

pencemaran limbah domestik yaitu sampah anorganik seperti plastik dan stereofom telah ditemukan di ekosistem mangrove teluk awur [3]. Cemarannya yang berada di teluk awur berpotensi mengandung logam berat, sehingga budidaya spirulina di kawasan teluk awur perlu dianalisis senyawa yang terkandung dalam spirulina.

Penetapan kadar arsen paling sering menggunakan metode spektrofotometri serapan atom karena metode ini cepat, efisien, sensitif dan selektif. Penetapan kadar arsen dalam material biologi telah dilakukan dengan spektrofotometri serapan atom-generator hidrida (SSA-GH) dan nilai range linearitas sebesar 0,003–0,025 ppm, dan LOD sebesar 0,0012 ppm [4]. Imran et al., (2015) telah mengembangkan metode yang sederhana, cepat, dan sensitif untuk arsen menggunakan spektrofotometri visibel dengan metil jingga sebagai reagen kromogenik dengan nilai LOD 0,2 ppb [5]. Nilai LOD yang kecil pada spektrofotometri serapan atom ini menunjukkan bahwa metode ini sangat cocok untuk penetapan kadar logam yang kadarnya kecil.

Penelitian ini dilakukan karena penelitian kadar arsen dengan menggunakan sampel spirulina masih relatif sedikit sehingga perlu mengetahui kadar logam arsen yang terkandung dalam spirulina dengan spektrofotometri serapan atom dan melakukan validasi metode analisis agar sesuai dengan tujuan pengukurannya.

2. Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat berupa seperangkat Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) tipe AA 7000 (Shimadzu), pipet tetes, pipet volume (Pyrex), neraca analitik (Ohaus), sendok tanduk, gelas ukur (Pyrex), beaker gelas (Pyrex), labu takar (Pyrex), blue tip dan yellow tip, hot plate (Cimarec) dan batang pengaduk.

Bahan berupa Suplemen makanan mengandung *Spirulina sp.*, HCl 37% p.a (Merck), HNO₃ 65% p.a (Merck), NaOH p.a (Merck), NaBH₄ p.a (Merck), H₂O₂ p.a (Merck), aqua demineralisata (Brataco), arsen p.a (Merck), kertas saring *whatman* no.1.

2.2. Preparasi Reagen, Kurva Baku dan Preparasi Sampel

Preparasi reagen untuk spektrofotometri serapan atom dengan menyiapkan HCl 5 M dan larutan NaBH₄ (0.4 gram NaBH₄ dan 0.5 gram NaOH dalam 100 mL air demineralisata) (modifikasi dari Cominos et al., 2001).

Kurva baku dibuat dengan konsentrasi 100 ppm; 50 ppm; 25 ppm; 12.5 ppm; 6.25 ppm untuk metode spektrofotometri visibel dan 1 ppm; 0.5 ppm; 0.25 ppm; 0.125 ppm; 0.0625 ppm; dan 0 ppm untuk metode spektrofotometri serapan atom.

Sampel spirulina sebanyak 1 gram dilarutkan 10 mL HNO₃ 65% pa dan dipanaskan di *hot plate* pada suhu 120° sampai jernih. Selanjutnya ditambahkan 5 mL H₂O₂ 30% pa, dipanaskan kembali sampai larutan jernih, didinginkan, dan disaring dengan kertas saring *whatman* no.1 Ditambahkan air demineralisasi sampai 25 mL [6].

2.3. Validasi Metode Dan Penetapan Kadar Arsen

Validasi metode meliputi parameter linearitas, rinitabilitas, presisi antara, akurasi, LOD, dan LOQ. Hasil validasi dibandingkan dengan syarat keberterimaan [7].

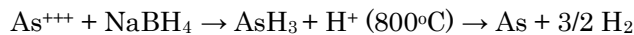
Siapkan sampel yang telah dipreparasi, HCl, dan NaBH₄. Masukkan selang yang berbeda dalam larutan sampel, HCl dan NaBH₄ pada sistem HVG. Sampel dibaca dengan

memasukkan selang khusus untuk sampel pada sistem HVG dan akan diteruskan pada alat spektrofotometri serapan atom pada λ 195,7 nm [8].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Reaksi reagen dengan sampel

Penetapan kadar arsen dengan menggunakan HVG (*Hidride Vapor Generator*) memberikan nilai kepekaan (sensitif) yang tinggi dan analit dapat terpisah dari matriks sampel sehingga mengurangi interferensinya.

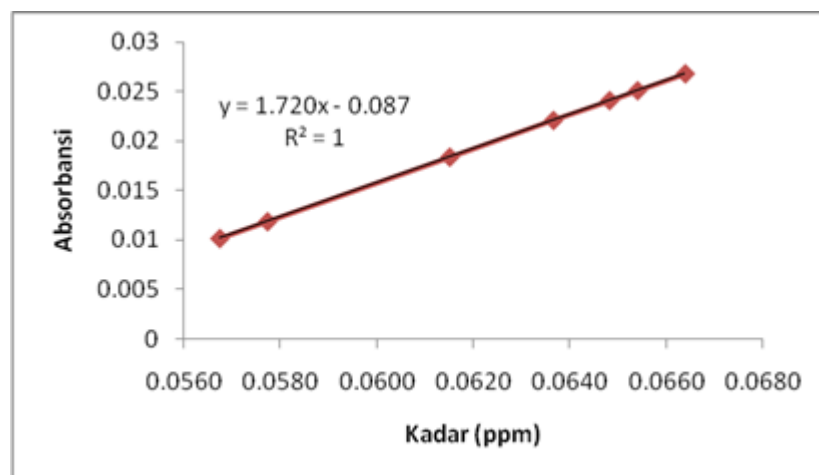


As (III) perlu direaksikan dengan reduktor NaBH_4 dan HCl untuk menghasilkan hidrida arsine (AsH_3) yang volatil. Hidrida yang terbentuk dibawa oleh aliran gas argon ke sel optik di mana arsine terurai menjadi atom As^0 dan akhirnya terdeteksi oleh detektor [9].

3.2. Validasi Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Validasi metode analisis merupakan proses pembuktian bahwa karakteristik kinerja metode yang akan digunakan telah memenuhi syarat sesuai dengan tujuan penggunaannya [10]. Pada penetapan kadar arsen pada suplemen makanan spirulina dengan spektrofotometri serapan atom dilakukan validasi metode meliputi parameter linearitas, riptabilitas, presisi, akurasi dan batas deteksi (LOD) serta batas kuantitasi (LOQ).

Linearitas merupakan parameter yang dipakai untuk melihat respon metode terhadap perubahan konsentrasi analit dalam sampel. Hasil linearitas berdasarkan koefisien korelasi (r) yang menunjukkan tingkat linearitas antara kadar dengan absorbansi ditunjukkan pada Gambar 1 dengan nilai $r = 1$ (Tabel 1). Data tersebut menunjukkan bahwa metode ini memenuhi persyaratan linearitas.



Gambar 1. Grafik linearitas arsen dengan SSA

Riptabilitas dan presisi antara merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif atau RSD dari sejumlah sampel. Besarnya nilai RSD menyatakan tingkat ketelitian analisis, semakin kecil nilai RSD maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya [7]. Hasil riptabilitas dan presisi antara pada penelitian ini memenuhi syarat (Tabel 1) berdasarkan syarat keberterimaan *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC) adalah $\text{RSD} < 11\%$ [11]. Syarat keberterimaan sangat tergantung dari konsentrasi analit yang diukur. RSD atau koefisien variasi meningkat

dengan menurunnya konsentrasi analit, pada kadar 1% atau lebih RSD adalah sebesar 2,5% sedangkan pada kadar 1 ppm nilai RSDnya sekitar 16% [12] sehingga semakin rendah kadar analit maka semakin besar atau lebar syaratnya.

Tabel 1. Hasil validasi metode penetapan kadar arsen pada suplemen makanan spirulina dengan spektrofotometri serapan atom

Parameter	Hasil	Syarat Keberterimaan	Kesimpulan
Linearitas	R=1	R>0,98 [10]	Memenuhi syarat
Ripitabilitas	RSD= 4,42%	RSD<2% [10]	Memenuhi syarat [11]
Presisi antara	RSD=5,24%	RSD<11% [11]	
Akurasi	recovery= 95,40%	recovery 80-110% [11]	Memenuhi syarat
	RSD= 6,71%	RSD<11% [11]	
LOD	0,0120 ppm	-	-
LOQ	0,0360 ppm	-	-

Keakuratan (*accuracy*) didefinisikan sebagai ukuran yang mengindikasikan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar sebenarnya dari analit yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) [7]. Hasil akurasi (Tabel 1) yang didapat memenuhi syarat keberterimaan yaitu *recovery* 80-110% dan RSD 11% [11].

Limit of detection (LOD) merupakan konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang masih dapat diukur, sedangkan *limit of quantitation* (LOQ) menunjukkan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama [13]. Hasil LOD yang didapat sebesar 0,0120 ppm sedangkan hasil LOQ sebesar 0,036 ppm. Data tersebut menunjukkan bahwa metode spektrofotometri serapan atom sensitif untuk penetapan kadar arsen.

3.3. Penetapan Kadar Arsen

Persamaan kurva baku didapatkan dari regresi linear antara absorbansi dan konsentrasi. Persamaan ini akan dapat digunakan untuk penetapan kadar arsen dalam sampel spirulina. Pada spektrofotometri serapan atom, larutan baku dibaca pada SSA-HVG dibaca pada λ 193,7 nm. Kadar arsen dalam sampel spirulina dapat ditetapkan berdasarkan persamaan kurva baku dan ditemukan rerata kadar sampel 0,0656 ppm (Tabel 2).

Tabel 2. Persamaan kurva baku arsen dan kadar sampel dengan SSA

	SSA
Rentang kadar (ppm)	1,00-0,00
Kurva Baku	Y=1,7208x-0,087431
R	0,9997
R ²	0,9994
Kadar sampel (n=4)	0,0656 ppm

Kadar arsen dalam spirulina yang ditetapkan dengan SSA masih layak untuk dikonsumsi berdasarkan batas cemaran maksimum yang ditetapkan oleh BPOM RI. Batas cemaran arsen maksimum dalam makanan ataupun minuman adalah 1 ppm [14].

4. Kesimpulan

Metode spektrofotometri serapan atom telah memenuhi syarat keberterimaan parameter validasi. Kadar cemaran logam arsen dalam spirulina dengan spektrofotometri serapan atom telah ditemukan dan masih dalam batas aman untuk dikonsumsi yaitu 0,0656 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

Referensi

- [1] A. Belay, "Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Assurance," in *Spirulina in Human Nutrition and Health*, M. E. Gershwin and A. Belay, Eds. Boca Raton: CRC Press, 2008, pp. 1–20.
- [2] S. Dhruv, I. Mani, and U. Iyer, "Spirulina and Its Therapeutic Implications as a Food Product," in *Spirulina in Human Nutrition and Health*, M. E. Gershwin and A. Belay, Eds. Boca Raton: CRC Press, 2008, pp. 51–70.
- [3] O. Y. Pradana, Nirwani, and Suryono, "Kajian Bioekologi dan Strategi Pengelolaan Ekosistem Mangrove : Studi Kasus di Teluk Awur Jepara," *Diponegoro J. Mar. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 54–61, 2013, doi: 10.14710/jmr.v2i1.2056.
- [4] J. Szkoda, J. Zmudzki, and A. Grzebalska, "Determination of arsenic in biological material by hydride generation atomic absorption spectrometry method," *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, vol. 50, no. 2, pp. 269–272, 2006.
- [5] M. Imran, N. Kumar, D. Kumar, and F. Nohri, "Spectrophotometric determination of trace level arsenic in water by methyl orange as a chromogenic reagent," *Anal. Chem.*, vol. 15, no. 9, pp. 365–368, 2015.
- [6] J. Sanders, "Monitoring Heavy Metals by Atomic Absorption Spectroscopy for Compliance with RoHS and WEEE Directives Application Note," *Semicond. Anal. Environ. Introd.*, no. 40, pp. 1–6, 2012.
- [7] M. Mulja and D. Hanwar, "Prinsip-prinsip Cara Berlaboratorium yang Baik (Good Laboratory Practice)," *Maj. Farm. Airlangga (Airlangga J. Pharmacy)*, vol. 3, no. 2, pp. 71–76, 2003.
- [8] X. Cominos, S. Athanaselis, A. Dona, and A. Koutselinis, "Analysis of total mercury in human tissues prepared by microwave decomposition using a hydride generator system coupled to an atomic absorption spectrometer," *Forensic Sci. Int.*, vol. 118, no. 1, pp. 43–47, 2001, doi: 10.1016/S0379-0738(00)00379-0.
- [9] A. M. Abdel-Lateef, R. A. Mohamed, and H. H. Mahmoud, "Determination of Arsenic (III) and (V) Species in Some Environmental Samples by Atomic Absorption Spectrometry," *Adv. Chem. Sci.*, vol. 2, no. 4, pp. 2–5, 2013.
- [10] Depkes RI, *Farmakope Indonesia*, VI. Jakarta, 2020.
- [11] AOAC, "Appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements," *AOAC Int.*, p. 9, 2016.
- [12] Riyanto, *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Yogyakarta: deepublish, 2014.

- [13] Harmita, *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*, vol. 1, no. 3. Jakarta, 2004.
- [14] Depkes RI, *Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan*. Jakarta, 2009.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)
