

## VALIDASI METODE AANI UNTUK UNSUR ESENSIAL DALAM CUPLIKAN BIOLOGIS

Ramzy, Indria K. P, dan E. Rohaeti

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor,  
Email: kimia@fmipa.ipb.ac.id

### ABSTRAK

#### VALIDASI METODE AANI UNTUK UNSUR ESENSIAL DALAM CUPLIKAN BIOLOGIS.

Mineral merupakan faktor esensial dalam tubuh yang memiliki peranan berbeda-beda dalam sistem metabolisme, antara lain sebagai kofaktor enzim dalam berbagai reaksi biokimia dan sintesis hormon. Kelebihan ataupun kekurangan unsur-unsur mineral dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai penyakit. Oleh karena itu, penentuan unsur-unsur mineral menjadi penting untuk dilakukan. AANI (analisis aktivasi neutron instrumental) adalah teknik analisis dengan limit deteksi rendah dan termasuk analisis multi unsur. Validasi diperlukan untuk mengkaji presisi dan akurasi hasil pengujian metode AANI ini. Validasi dalam penelitian ini dilakukan menggunakan SRM NIST (*Standard Reference Materials National Institute of Standard Technology*) 1573a *Tomato Leaves* dan 1577b *Bovine Liver*. Unsur-unsur yang tervalidasi ialah Se, Cr, Co, dan Zn. Metode AANI menghasilkan koalitas data yang baik untuk keempat unsur tersebut; penyimpangan relatif berkisar 20%, *U-test* lebih kecil dari 1,95, *Z-score* dari data yang dihasilkan dapat diterima pada tingkat kepercayaan 95%, dan memenuhi (lulus) uji presisi dan akurasi. Validasi ditentukan menggunakan persamaan statistika dari IAEA. Batas deteksi (*limit of detection*) untuk keempat unsur tersebut telah ditentukan dengan hasil sebagai berikut: Se 0,165 mg/kg, Cr 0,426 mg/kg, Co 0,0765 mg/kg, dan Zn 0,460 mg/kg. Metode ini dapat diaplikasikan untuk penentuan unsur Se, Cr, Co, dan Zn dalam cuplikan biologis antara lain darah.

**Kata kunci:** AANI, unsur esensial, cuplikan biologis

### ABSTRACT

#### VALIDATION OF INAA METHOD FOR ESSENTIAL ELEMENTS ON BIOLOGICAL

**SAMPLES.** Mineral is an essential factor in the body that takes important roles that differ to each other in metabolism system, such as enzyme cofactor in biochemical reaction and hormone synthesis. An excess or deficiency of minerals element could cause disease. Therefore determination of minerals element become important to be done. INAA (instrumental neutron activation analysis) is an analysis technique with low limit detection and multi-element analysis. Validation is needed to observe the accuracy and precision of the result by INAA method. This validation was done using SRM NIST (Standard Reference Material National Institute of Standard Technology) 1573a *Tomato Leaves* and 1577b *Bovine Liver*. The validated elements were Se, Cr, Co, and Zn. INAA method produced good quality data for these four elements; relative bias less than about 20%, *U-test* score less than 1,95, *Z-score* data were acceptable for confidence interval of 95%, and also acceptable on precision and accuracy test. Validation was determined by using statistical equation according to IAEA. The limit of detection for these four elements was also determined. The results were Se 0.165 mg/kg, Cr 0.426 mg/kg, Co 0.0765 mg/kg, and Zn 0.460 mg/kg. This method is possible to be use for the determination of Se, Cr, Co, and Zn on biological sample such as blood.

**Key words:** INAA, essential elements, biological sample

### PENDAHULUAN

Mineral merupakan faktor esensial pemberi nutrisi di dalam tubuh manusia

yang memiliki peranan berbeda-beda dalam sistem metabolisme antara lain sebagai kofaktor enzim dalam berbagai reaksi

biokimia dan sintesis hormon. Salah satu contohnya adalah logam Zn yang diperlukan dalam pertumbuhan dan perkembangan, sistem saraf, proses penyembuhan, dan sebagian dibutuhkan dalam jaringan reproduktif serta berperan bersama-sama dengan vitamin A [1].

Penyakit umumnya disebabkan karena adanya perubahan secara tidak normal dalam tubuh manusia, seperti perubahan dalam sintesis atau defisiensi eksresi. Hal ini terjadi karena berlebih atau berkurangnya berbagai unsur kimia dari jumlah yang normal. Oleh karena itu, penentuan mineral menjadi penting untuk diketahui karena berkaitan langsung dengan penyebab penyakit yang merugikan tubuh manusia [1,2]. Dasar dari penentuan penyakit tersebut adalah dengan mengetahui kuantitas dari berbagai unsur mineral normal dan unsur toksiknya. Unsur-unsur mineral berada dalam nukleoprotein, metalloprotein, kromoprotein, asam nukleat, nukleotida (ATP), enzim (co-enzim A), lipoprotein, dan metabolit lainnya. Unsur mineral dapat dianalisis dari beberapa cuplikan dalam tubuh, seperti darah (Ca, Cl, Mg, P, Fe, Cu, Na, K); urin (Ca, P, Pb, Hg); cairan cerebrospinal (Na, K, Hg); dan feses (Ca). Namun, secara umum dapat diketahui bahwa mineral cenderung lebih banyak ditemukan dalam darah karena berperan utama dalam sistem transport tubuh [2].

Penentuan unsur mineral dapat dilakukan dengan berbagai macam metode yang disesuaikan dengan matriks cuplikan yang akan digunakan. Unsur mineral kelumit dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode dan alat yang memiliki limit deteksi

yang rendah, simultan, dan nilai keakuratan yang tinggi. Menurut Sabbioni (1996), metode analisis yang dapat digunakan dalam penentuan unsur mineral dalam darah antara lain spektrografi, kolorimetri, reaksi katalistik, fluoresensi sinar X, PIXE (*particle induced X-ray emission*), ICP-MS (*induced coupled plasma mass spectrometry*), ICP-AES (*induced coupled plasma atomic emission spectrometry*), ID-MS (*isotope dilution mass spectrometry*), GF-AAS (*graphite furnace atomic absorption spectrometry*), ETAAS (*electro thermal atomic absorption spectrometry*), NAA (*neutron activation analysis* atau analisis aktivasi neutron, AAN) [3]. Setiap metode memiliki karakteristik dan sensitivitas yang berbeda-beda pada setiap unsur yang dianalisis. Oleh karena itu, hingga saat ini belum ditemukan metode standar dalam penentuan unsur-unsur kelumit dalam suatu organisme [4]. Berdasarkan penelitian Zdankiewicz dan Fasching (1976), diketahui bahwa pada darah penderita kanker terkandung 13 macam unsur dengan menggunakan metode analisis instrumental AAN [5].

Untuk digunakan lebih lanjut, suatu metode perlu dikaji dan dievaluasi kinerja dan ketepatan hasil analisisnya. Rangkaian kegiatan tersebut biasa dikenal dengan validasi metode. Dalam penelitian ini, akan dilakukan validasi metode untuk AANI logam-logam dalam cuplikan biologis. Harapannya, metode ini akan dapat digunakan untuk mengetahui kadar unsur-unsur hasil analisis dalam cuplikan biologis seperti darah. Cuplikan yang akan digunakan dalam validasi ini ialah bahan

acuan SRM 1573a *Tomato Leaves* dan SRM 1577b *Bovine Liver*).

## TEORI

### Analisis Aktivasi Neutron

Analisis aktivasi neutron merupakan salah satu analisis unsur secara kualitatif dan kuantitatif. Metode ini didasarkan pada reaksi penangkapan neutron termal oleh inti atom (nuklida) melalui reaksi  $(n,\gamma)$ , seperti digambarkan pada diagram Gambar 1. Neutron termal akan berinteraksi dengan nuklida menjadi nuklida radioaktif (radionuklida). Radionuklida akan melepaskan kelebihan energinya melalui transisi isomerik atau melalui peluruhan  $\beta^-$  atau  $\beta^+$  yang umumnya diikuti oleh emisi sinar  $\gamma$  [7]. Sinar  $\gamma$  yang diemisikan bersifat karakteristik, yaitu setiap radionuklida mengemisikan sinar  $\gamma$  dengan energi tertentu. Hal ini dapat digunakan untuk analisis kualitatif suatu cuplikan. Jumlah sinar  $\gamma$  yang diemisikan dapat digunakan untuk analisis kuantitatif. Dalam prakteknya, jumlah sinar  $\gamma$  dinyatakan dalam satuan cacah per detik (*count per second*; cps). Persamaan yang umum digunakan dalam penentuan kuantitatif pada AAN ialah sebagai berikut:

$$W_{cpl} = W_{st} \frac{R_{cpl}}{R_{st}}$$

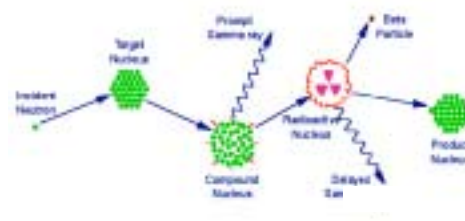
di mana:

$W_{cpl}$  = massa unsur dalam cuplikan

$W_{st}$  = massa unsur dalam standar

$R_{cpl}$  = cacah sinar  $\gamma$  dalam cuplikan

$R_{st}$  = cacah sinar  $\gamma$  dalam standar



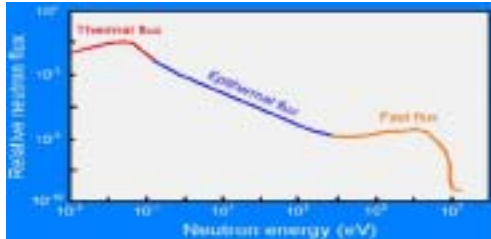
Gambar 1 Proses penangkapan neutron termal oleh inti atom yang disertai dengan pelepasan sinar  $\gamma$  [7]

Berdasarkan prosedur pemisahan yang diperlukan, AAN dibagi menjadi tiga kategori. Kategori pertama yaitu bila sebelum dan sesudah iradiasi tidak dilakukan pemisahan/perlakuan kimia terhadap cuplikan, disebut AANI (AAN instrumental = *Instrumental* NAA, INAA). Kategori kedua, bila dilakukan pemisahan sebelum cuplikan diiradiasi, disebut AANK (AAN kimia = *Chemical* NAA, CNAA). Kategori ketiga adalah bila pemisahan dilakukan setelah cuplikan diiradiasi, disebut AANR (AAN radiokimia = *radiochemical* NAA, RNAA).

### Peralatan AAN

Peralatan dasar yang dibutuhkan dalam melakukan analisis dengan teknik AAN ialah sumber neutron dan sistem pencacah sinar gamma. Sumber neutron yang umumnya ditemui ialah reaktor, akselerator, dan radioisotop pemancar neutron radioisotopik. Dari hasil reaksi pembelahan inti yang terjadi di reaktor nuklir, diperoleh neutron dengan nilai fluks yang tinggi. Tipe reaktor dan posisi di dalam reaktor akan memberikan perbedaan distribusi energi neutron dan fluks. Hal ini karena adanya perbedaan material yang digunakan sebagai moderator dalam reaktor

tersebut. Pada Gambar 2 ditunjukkan energi neutron yang dikelompokkan atas termal, epitermal, dan cepat.



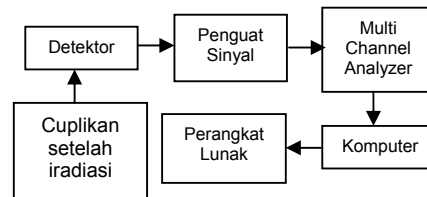
Gambar 2 Spektrum distribusi dan klasifikasi energi neutron yang dihasilkan oleh suatu reaktor [8]

Komponen neutron termal terdiri atas neutron dengan energi rendah (energi di bawah 0,5 eV) dalam kesetimbangan termal dengan atom dalam moderator reaktor. Pada temperatur ruangan, spektrum energi neutron termal secara baik dijelaskan dengan distribusi Maxwell-Boltzmann dengan rerata energi 0,025 eV dan probabilitas kecepatan 2200 m/s. Komponen neutron epitermal terdiri atas neutron dengan energi dari 0,5 eV sampai dengan 0,5 MeV. Baik neutron termal maupun epitermal, menyebabkan reaksi  $(n,\gamma)$  pada inti target. Neutron cepat merupakan neutron dengan energi lebih dari 0,5 MeV, berperan sangat kecil dalam reaksi  $(n,\gamma)$ , dibandingkan reaksi  $(n,p)$ ,  $(n,n)$ , maupun  $(n,2n)$ .

Pencacahan sinar  $\gamma$  dilakukan dengan menggunakan detektor HPGe (*high pure germanium*) yang mengandung kristal Ge murni (intrinsik) pada suhu  $N_2$  cair. Kristal Ge disanggah pada kriostat vakum dan dihubungkan secara termal dengan batang tembaga sebagai pendingin. Detektor yang digunakan berupa HPGe koaksial yang dapat mengukur sinar  $\gamma$  pada kisaran energi 60 KeV hingga 3 MeV. Interaksi sinar  $\gamma$

dengan detektor HPGe koaksial akan menghasilkan sinyal pulsa yang tingginya ekuivalen dengan energi  $\gamma$  [9].

Sinyal pulsa yang terdeteksi diperkuat secara ganda oleh penguat awal (*pre-amplifier*) dan *amplifier*. Selanjutnya menggunakan MCA (*multi channel analyzer*) pulsa dipisah-pisahkan berdasarkan tingginya dan diubah menjadi sinyal digital oleh ADC (*analog to digital converter*). Data numerik hasil pencacahan cuplikan lalu diakumulasikan dalam saluran tertentu pada MCA sampai dengan waktu pencacahan selesai dan akan disimpan dalam unit pengolahan data (komputer)



Gambar 3 Bagan alir peralatan pencacah sinar gamma

### Validasi Metode

Validasi adalah sebuah evaluasi mengenai ketepatan dan ketelitian yang dicapai dari suatu prosedur analisis yang layak digunakan untuk menyelesaikan suatu masalah. Perbandingan analisis dari metode validasi dapat digunakan untuk mengevaluasi ketelitian dan ketepatan prosedur tersebut. Menurut Badan POM 2001, metode validasi analisis merupakan proses yang dilakukan melalui penelitian laboratorium untuk membuktikan bahwa karakteristik kinerja prosedur analisis tersebut memenuhi persyaratan aplikasi analisis yang dimaksudkan.

Metode validasi dari suatu analisis

harus dapat menunjukkan secara ilmiah bahwa risiko dari kesimpulan hasil analisis yang disebabkan oleh galat cukup kecil. Kinerja suatu metode analisis ditunjukkan oleh beberapa parameter validasi dan validitasnya dapat ditunjukkan melalui penelitian. Suatu metode analisis disebut sebagai metode yang baik untuk tujuan analisis jika nilai-nilai parameter validasinya memenuhi batas-batas yang ditentukan. Parameter validasi metode analisis antara lain spesivitas, sensitivitas, ketelitian, ketepatan, linieritas, kisaran (*range*), limit deteksi, limit kuantitasi, ketidak pastian, *trueness* dan *robustness*, namun dalam penelitian ini parameter uji banding yang akan diuji adalah uji ketelitian, uji ketepatan, bias relatif, uji-Z, dan uji-U.

Tujuan dilakukannya validasi metode analisis adalah membuktikan bahwa prosedur analisis yang dilakukan sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai; menjamin bahwa prosedur penetapan kadar yang digunakan dapat dipercaya hasil analisisnya; dan menjamin keterulangan prosedur penetapan kadar. Validasi diharapkan dapat mengurangi masalah produksi dan kemungkinan kerja ulang; menjamin mutu obat; menambah kepercayaan pelanggan; dan menambah keuntungan perusahaan.

#### Parameter Validasi

Parameter validasi yang digunakan antara lain relatif bias, uji-Z, Uji-U, uji presisi, dan uji akurasi. Uji-uji tersebut digunakan sebagai metode penelitian uji banding yang mengacu pada *system proficiency test* dari IAEA (*International Atomic Energy Agency*).

#### Penyimpangan Relatif

Penyimpangan hasil analisis selalu terjadi karena adanya galat sistematis dan galat personal. Penyimpangan hasil analisis terhadap nilai sebenarnya merupakan parameter penilaian suatu metode terhadap metode lain. Semakin kecil nilai relatif bias hasil analisis suatu metode, dapat diartikan penyimpangannya akan semakin kecil. Nilai *a* adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari sertifikat resmi SRM sedangkan nilai *b* adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis SRM dengan metode AAN. Perhitungan relatif bias diperoleh melalui persamaan:

$$RB = \frac{\text{nilai } a - \text{nilai } b}{\text{nilai } b} \times 100\%$$

#### Uji-Z.

Suatu hasil analisis memiliki selang kepercayaan tertentu jika dibandingkan dengan nilai sebenarnya. Uji-Z digunakan untuk menentukan jika hasil analisis berbeda nyata dengan nilai yang sebenarnya dalam selang kepercayaan tertentu. Seperti pada bias relatif, nilai *a* adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari sertifikat resmi SRM sedangkan nilai *b* adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis SRM dengan metode AAN. Nilai  $\sigma_H$  merupakan nilai tetapan dari perumusan  $(0,02.C^{0,8495})$ . Nilai ini bergantung pada nilai konsentrasi SRM hasil analisis (nilai *b*). Perhitungan uji-Z diperoleh melalui persamaan:

$$Z_{\text{score}} = \frac{\text{nilai } a - \text{nilai } b}{\sigma_H}$$

### Uji-U

Suatu hasil analisis memiliki nilai ketidakpastian yang diperoleh dari langkah-langkah preparasinya. Suatu analisis yang baik harus memiliki nilai ketidakpastian yang kecil sehingga hasilnya memiliki selang daerah nilai yang kecil. Uji-U ialah evaluasi nilai ketidakpastian hasil dengan selang kepercayaan tertentu. Nilai Unc (*uncertainty*) merupakan suatu nilai ketidakpastian yang diperoleh dari penjumlahan keseluruhan galat *error* pada setiap tahapan penelitian. Nilai a adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari sertifikat resmi SRM, sedang nilai b adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis SRM dengan metode AAN. Perhitungan uji-U diperoleh melalui persamaan:

$$U_{\text{score}} = \frac{|\text{nilai a} - \text{nilai b}|}{\sqrt{\text{Unc a}^2 + \text{Unc b}^2}}$$

### Uji Presisi

Menurut Badan POM (2001), presisi adalah ukuran kedekatan antara hasil analisis individu dalam serangkaian pengukuran terhadap suatu contoh homogen dengan pengambilan contoh berganda menurut prosedur yang telah ditetapkan. Nilai presisi dihitung secara statistik pada tiga tingkatan, yaitu presisi intra penetapan kadar (*repeatability*), presisi-antara (*intermediate precision*), dan reproduisibilitas (*reproducibility*). Presisi intra penetapan kadar menyatakan presisi yang dilakukan pada kondisi yang telah ditentukan di laboratorium yang sama dalam interval waktu yang pendek oleh analis yang sama dengan menggunakan peralatan dan pereaksi yang sama. Presisi-antara

menyatakan presisi yang dilakukan pada kondisi yang telah ditentukan di laboratorium yang sama pada hari yang berbeda oleh analis yang berbeda dengan menggunakan peralatan dan pereaksi yang berbeda. Reproduisibilitas menyatakan presisi yang dilakukan pada kondisi yang telah ditentukan di laboratorium yang berbeda pada hari yang berbeda oleh analis yang berbeda dengan menggunakan peralatan dan pereaksi yang berbeda.

Presisi mencakup dua macam ukuran, yaitu riptabilitas dan reproduisibilitas. Riptabilitas mengacu pada pengujian yang dilakukan pada kondisi tetap, pada waktu yang berdekatan, menggunakan alat yang sama, dan dilakukan oleh analis yang sama. Reproduisibilitas mengacu pada pengujian yang dikerjakan oleh analis yang berbeda, dan dilakukan di laboratorium serta alat yang berbeda, serta menyatakan presisi antar laboratorium.

Nilai Unc (*uncertainty*) merupakan suatu nilai ketidakpastian yang diperoleh dari penjumlahan keseluruhan galat *error* pada setiap tahapan penelitian. Nilai a adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari sertifikat resmi SRM sedangkan nilai b adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis SRM dengan metode AAN. Nilai  $\sigma_H$  merupakan nilai tetapan dari perumusan ( $0,02.C^{0,8495}$ ). Perhitungan uji presisi diperoleh melalui persamaan:

$$\sqrt{\left[\frac{\text{Unc}_a}{\text{nilai}_a}\right]^2 + \left[\frac{\text{Unc } b}{\text{nilai}_b}\right]^2} \times 100\% \leq \sqrt{\left[\frac{\text{Unc}_a}{\text{nilai}_a}\right]^2 + (\sigma_H)^2} \times 100\%$$

### Uji Akurasi

Menurut Badan POM (2001), akurasi

adalah ukuran kedekatan nilai rerata hasil analisis dengan nilai sebenarnya. Akurasi harus ditetapkan sepanjang suatu rentang kadar yang mencakup kadar yang hendak dianalisis. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery percentage*). Ketepatan menunjukkan kedekatan hasil analisis (kadar) suatu analit dengan nilai sebenarnya. Ketepatan diukur dengan menghitung perolehan kembali (% *recovery*). Nilai *recovery* menunjukkan besarnya kesalahan sistematis yang mungkin terjadi selama proses pengujian.

Ketepatan suatu prosedur analisis didefinisikan sebagai kedekatan hasil yang diterima (baik sebagai nilai teoritis maupun dengan nilai rujukan yang diterima) dengan nilai yang diperoleh dari hasil pengukuran. Nilai *Unc* (*uncertainty*) merupakan suatu nilai ketidak pastian yang diperoleh dari penjumlahan keseluruhan galat *error* pada setiap tahapan penelitian. Nilai *a* adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari sertifikat resmi SRM sedangkan nilai *b* adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dari hasil analisis SRM dengan metode AAN. Nilai  $\sigma_H$  merupakan nilai tetapan dari perumusan  $(0,02.C^{0,8495})$ . Nilai 1,95 merupakan suatu nilai defisiensi dari tingkat kepercayaan 95%. Perhitungan uji akurasi diperoleh melalui persamaan:

$$|nilai_{sertifikat} - nilai_{analisis}| < 1,95 \times \sqrt{unc_{sertifikat}^2 + unc_{analisis}^2}$$

#### TATA KERJA

Disiapkan SRM 1573a *Tomato Leaves* dan SRM 1577b *Bovine Liver*. SRM ditimbang dan dimasukkan ke dalam vial poli etilen. Bobot penimbangan berkisar antara 70 mg sampai dengan 100 mg.

Penimbangan dilakukan dengan neraca Sartorius kapasitas maksimum 2 gram. Vial poli etilen kemudian diselimuti dengan lembaran aluminium dan diberi kode. Vial yang telah diselimuti lembaran aluminium disiapkan dalam tabung iradiasi dan dimasukkan ke dalam fasilitas rabbit.

Iradiasi dilakukan di fasilitas iradiasi di RSG-GAS, pada fluks neutron termal  $1013 \text{ n.cm}^{-2}.\text{det}^{-1}$  dengan waktu iradiasi 1 jam. Setelah diiradiasi, cuplikan dididindinginkan dan diluruhkan selama 14 hari (Zn; SRM 1577b) dan 21 hari (Se, Co, Cr; SRM1573a) sebelum dicacah. Pencacahan cuplikan dilakukan dengan menggunakan detektor gamma resolusi tinggi, dengan efisiensi relatif detektor HPGe 15% pada posisi di atas dengan jarak yang sama antar SRM. Analisis kualitatif dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak GENIE 2000 dan analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode komparatif dengan bantuan perangkat lunak Microsoft office excel 2007.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kondisi Metode AAN

Kondisi AAN pada penelitian ini dijabarkan dalam Tabel 1

Pengaruh waktu peluruhan di uji cobakan untuk jangka waktu 14 hari dan 21 hari. Hasil yang paling baik untuk logam Se, Cr, dan Co diperoleh pada waktu pendinginan 21 hari. Setelah 14 hari, puncak-puncak Br-82 masih menutupi puncak-puncak target, sehingga tidak dapat dianalisis dengan baik. Untuk logam Zn, puncak diperoleh dengan kualitas data yang baik dengan waktu peluruhan 14 hari.

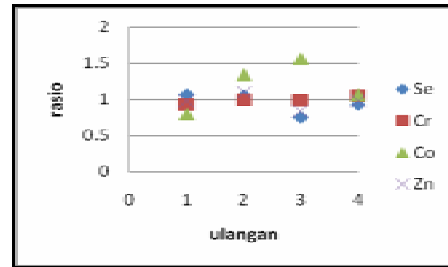
Puncak Zn yang lebih besar dari 1000 keV menyebabkannya bebas dari gangguan efek Compton yang disebabkan oleh spektrum natrium, bromium, dan kalium.

Tabel 1 Kondisi metode validasi unsur Se, Cr, Co, dan Zn

Parameter	Unsur			
	Se	Cr	Co	Zn
SRM yang digunakan	1573 a	1573 a	1573 a	1577 b
Waktu iradiasi	2 jam	2 jam	2 jam	2 jam
Waktu peluruhan	21 hari	21 hari	21 hari	14 hari
Waktu pencacahan	3 jam	3 jam	3 jam	2 jam

### Sebaran Rasio Data

Sebaran rasio hasil dapat di ilustrasikan sebagai berikut. Hasil yang diperoleh masih berkisar antara 0,8 sampai dengan 1,20. Rerata rasio hasil berkisar antara 0,98 sampai dengan 1,03. Hasil tersebut cukup baik, karena rasio kesalahan lebih kecil dari 0,2.



Gambar 4 Diagram rasio hasil pengukuran dengan nilai sertifikat

### Uji Kualitas data

#### Penyimpangan Relatif

Penyimpangan relatif menunjukkan besarnya kesalahan hasil analisis dibandingkan dengan nilai sebenarnya. Penyimpangan relatif tidak menentukan tervalidasi atau tidaknya suatu metode AAN menurut IAEA, tetapi mempengaruhi kualitas data dari suatu metode. Nilai mutlak penyimpangan relatif yang mendekati nilai nol jauh lebih baik jika dibandingkan dengan nilai yang lebih jauh dari nol. IAEA menyarankan suatu metode AAN memiliki nilai penyimpangan relatif lebih kecil dari 10%.

Tabel 2 Data rasio seluruh data ulangan

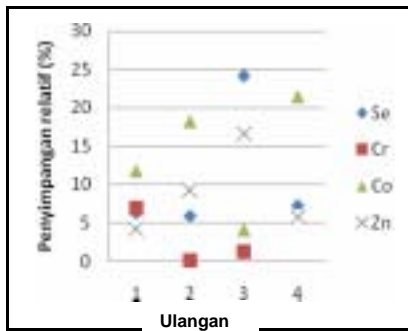
Logam	Ulangan	Hasil	Unc	Sertifikat	uncS	Rasio
Se	1	0,0574	0,0053	0,054	0,003	1,06
	2	0,0572	0,0135	0,054	0,003	1,06
	3	0,0501	0,0074	0,054	0,003	0,93
	4	0,0404	0,0038	0,054	0,003	0,75
	Rerata		0,0513	0,0075	0,054	0,003
Cr	1	1,8508	0,0261	1,99	0,06	0,93
	2	1,9928	0,1419	1,99	0,06	1,00
	3	1,9645	0,1241	1,99	0,06	0,99
	4	2,1065	0,0117	1,99	0,06	1,06
	Rerata		1,9786	0,0760	1,99	0,06
Co	1	0,6376	0,0045	0,57	0,02	1,12
	2	0,6742	0,1216	0,57	0,02	1,18
	3	0,5461	0,0039	0,57	0,02	0,96
	4	0,4473	0,0029	0,57	0,02	0,78
	Rerata		0,5763	0,0332	0,57	0,02
Zn	1	122,8811	4,5647	127	16	0,97
	2	140,0992	4,2952	127	16	1,10
	3	105,8347	3,9315	127	16	0,83
	4	122,2343	4,4526	127	16	0,96
	Rerata		122,7623	4,3110	127	16



Tabel 3 Data penyimpangan relatif dari unsur-  
unsur yang dianalisis

Ulangan ke-	Unsur			
	Se	Cr	Co	Zn
1	6,3	5,89	24,13	7,24
2	7	0,14	1,28	5,86
3	11,86	18,28	4,2	21,52
4	4,24	9,31	16,67	5,76
<b>Rerata</b>	<b>7,35</b>	<b>8,405</b>	<b>11,57</b>	<b>10,095</b>

Dari tabel 3, diperoleh data bahwa rerata dari relatif bias dari dua unsur yaitu Se dan Cr tidak lebih dari 10 %, sedangkan dua unsur lagi, yaitu Co dan Zn, sedikit lebih besar dari 10%. Sebaran dari nilai penyimpangan relatif diperjelas dengan Gambar 5 berikut.



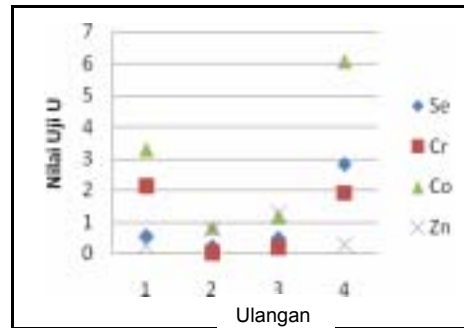
Gambar 5 Diagram sebaran penyimpangan  
relatif data validasi

Beberapa nilai mencapai nilai penyimpangan relatif 25%, tetapi hanya satu dari masing-masing unsur, kecuali Co. Hal ini disebabkan oleh kesalahan detektor dalam mencacah radiasi gamma.

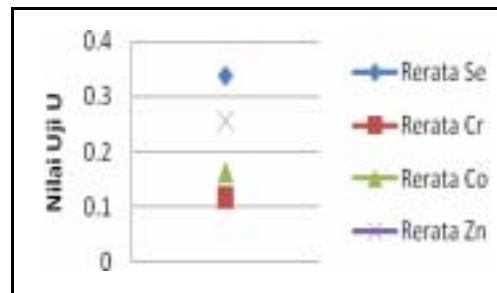
### Uji U

Uji U digunakan untuk mengevaluasi nilai ketidak pastian hasil dengan selang kepercayaan tertentu. Suatu data yang diuji dengan uji U dikatakan tidak berbeda nyata dengan hasil yang sebenarnya jika nilainya lebih kecil dari 1,64. Dalam hasil penelitian ini, keempat logam memiliki sebaran data

cukup baik, dengan rerata hasil dari 4 kali pengulangan yang menunjukkan nilai lebih kecil dari 1,64. Data dengan hasil uji U lebih kecil dari 1,64 dapat dikatakan tidak berbeda secara signifikan dengan nilai sebenarnya. Jika hasil uji U lebih besar dari 1,64 dan lebih kecil dari 1,95 maka data dapat dikatakan baik tetapi tidak sebaik jika hasil uji U lebih kecil dari 1,64 karena nilai ketidak pastiannya terlalu besar. Jika dibandingkan dengan digram rasio sebelumnya, terbukti bahwa rasio dari logam Co memang lebih melebar dibandingkan dengan unsur-unsur lain, karena beberapa datanya memiliki nilai uji U yang lebih besar dari 1,95. Berikut adalah diagram dari sebaran data hasil uji U untuk keempat logam. Dengan data rerata, dapat disimpulkan bahwa hasil analisis tidak berbeda dengan nilai yang sebenarnya.



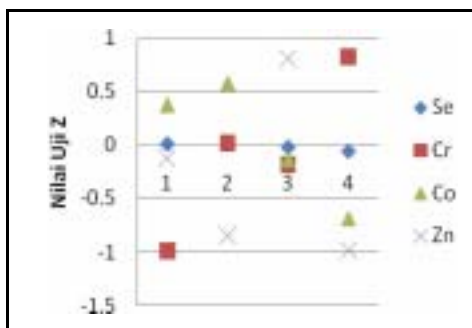
Gambar 6 Sebaran nilai uji U data validasi



Gambar 7 Sebaran rerata nilai uji U data validasi

## Uji Z

Suatu hasil analisis memiliki selang kepercayaan tertentu jika dibandingkan dengan nilai sebenarnya. Uji-Z digunakan untuk menentukan apakah hasil analisis berbeda nyata dengan nilai yang sebenarnya dalam selang kepercayaan tertentu. Semakin tinggi selang kepercayaan yang digunakan, maka kualitas data akan semakin baik. Kami menyamakan selang kepercayaan yang digunakan ialah sebesar 95%, sehingga nilai uji Z akan baik jika lebih besar dari -1,95 dan lebih kecil dari 1,95 (tabel uji Z).



Gambar 8 Sebaran nilai uji Z data validasi

Dari diagram diatas, seluruh data pengulangan memenuhi daerah selang kepercayaan 95%.

## Uji Penerimaan Kriteria

Penerimaan kriteria validasi ditentukan oleh kriteria presisi dan akurasi data. Hasil penerimaan terlampir dalam lampiran 2.

Secara umum, data memiliki kualitas data yang baik (menurut hasil relatif bias, Uji U, dan Uji Z). Tetapi, suatu validasi dapat diterima jika hasilnya dalam uji presisi dan akurasi memenuhi syarat pada persamaan.

Uji akurasi dan presisi dilakukan mengacu pada referensi IAEA.

Menurut Amiel (1981) [9], parameter akurasi dan presisi dalam suatu metode nuklir nondestruktif sebaiknya diterima untuk 60% data hasil analisis. Nilai uji presisi berhubungan dengan nilai perolehan kembali dan ketelitian, karena dalam ujinya terdapat parameter  $\sigma_H$  yang merupakan bagian dari hasil analisis. Nilai ketidakpastian analisis juga menjadi faktor dalam perhitungan uji presisi, sehingga uji presisi juga memiliki unsur ketelitian.

## Kemungkinan aplikasi

Seluruh SRM yang digunakan ialah cuplikan biologis. Pemilihan SRM 1573a *Tomato Leaves* dan SRM 1577b *Bovine Liver* mengacu pada kesamaan matriks dari sumber kedua SRM tersebut dengan matriks cuplikan biologis terutama darah [11]. SRM *tomato leaves* berasal dari daun tomat yang dikeringkan dan dihaluskan, sedangkan SRM *bovine liver* berasal dari jaringan hati makhluk hidup yang dikeringkan.

Logam hasil validasi yang dilakukan, yaitu Se, Cr, Co, dan Zn, merupakan logam yang berperan dalam sistem metabolisme manusia. Se merupakan komponen integral dari enzim glutathionperoksidase yang menetralkan oksigen aktif seperti  $H_2O_2$  dan  $O_2^-$  [12, 13, 14]. Cr merupakan kofaktor dalam metabolisme glukosa yang berhubungan dengan insulin [14]. Co merupakan bagian dari vitamin  $B_{12}$  yang mengatur fungsi metabolisme pembentukan protein heme (berkaitan dengan darah) [14]. Zn merupakan konstituen dari lebih dari 200

Tabel 4 Limit deteksi, limit kuantisasi, dan kisaran konsentrasi Se, Cr, Co, dan Zn dalam darah [14]

Unsur	Simpangan Baku	Limit Deteksi ( $10^{-9}$ gram)	Koefisien Sensitivitas	Limit Kuantisasi Metode ( $10^{-9}$ gram)	Kisaran Dalam Darah ( $\text{ng ml}^{-1}$ )
Se	0,0081	0,0263	1,654	0,043564	60 – 180
Cr	0,1050	0,3455	1,942	0,67102	2 – 400
Co	0,1015	0,3339	1,058	0,353237	0,3 – 400
Zn	13,9929	0,0460	2,017	0,092810	800 – 3500

metaloenzim (karbonat anhidrase, alkalin fosfatase, dan lain-lain) dan berperan dalam fungsi tumbuh kembang jaringan dan reproduksi sistem imun, serta berkaitan dengan fungsi sensor indra perasa [14]. Zn juga berfungsi sebagai antioksidan alami dan penstabil sistem membran [14].

Limit deteksi radionuklida penting ditentukan dalam analisis aktivasi neutron. Limit deteksi seringkali diartikan sebagai puncak energi terkecil yang dapat terdeteksi dengan gangguan latar tertentu. Menurut Currie, limit deteksi dari beberapa radioaktif ialah 3,29 kali simpangan baku rerata puncak radiasi [14]. Massa terdeteksi didapatkan melalui persamaan  $Md=Ld \times K$ , dimana K ialah faktor sensitivitas (cacahan per gram). Dalam penelitian ini, K diperoleh dari kemiringan kurva linear antara bobot cuplikan (gram) dengan cacahannya (cacah per detik) [14]. Pada Tabel 14 disajikan hasil penentuan koefisien sensitivitas masing-masing unsur, limit deteksi nukleotida, dan limit kuantisasi metode dari metode ini.

Hasil dari validasi mungkin digunakan untuk menentukan kadar logam Se, Cr, Co, dan Zn dalam darah manusia. Hal ini ditunjukkan dengan limit kuantisasi metode yang berada lebih rendah daripada kadar logam-logam tersebut dalam darah manusia. Jika dibandingkan dengan metode yang dilakukan oleh Tadjiki et al. (1994),

diharapkan metode ini memperbaiki metode tersebut, karena limit kuantisasi dan faktor sensitivitas yang lebih rendah. Perlu pembuktian lebih lanjut untuk menguji coba metode ini menggunakan matriks darah yang sebenarnya.

Tabel 5 Perbandingan limit kuantisasi metode dengan metode Tadjiki et al.

Unsur	Limit Kuantisasi Metode ( $10^{-9}$ gram)	Limit Kuantisasi Metode Tadjiki et al. ( $10^{-9}$ gram)
Se	0,0435	1
Cr	0,6710	2,6
Co	0,3532	0,15
Zn	0,0928	8

## KESIMPULAN

Dari penelitian validasi metode AAN untuk unsur Se, Cr, Co, dan Zn dalam cuplikan biologis dapat disimpulkan bahwa konsentrasi keempat unsur tersebut dapat tervalidasi dengan kualitas data yang baik (penyimpangan relatif, Uji U, dan Uji Z). Penentuan keempat unsur tersebut juga lulus uji presisi dan akurasi (IAEA 2000). Limit deteksi (batas penentuan) keempat unsur ditentukan dan dimungkinkan untuk diaplikasikan pada cuplikan biologis seperti darah.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir (PTBIN) dan

Kepala Pusat Reaktor Serba Guna (PRSG) BATAN yang telah memfasilitasi penelitian ini, kepada Ibu Prof. Rukihati dan Bapak Saeful Yusuf, MT atas dukungan dan bimbingannya selama penelitian berlangsung. Tidak lupa limpahan terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Istanto Amd, Ibu Rina, MSi, Bapak Sumardjo Amd, dan Bapak Sulistiyoso, MSi atas bantuan yang telah diberikan selama penelitian ini dilaksanakan. Terimakasih yang sebesar-besarnya juga penulis ucapkan kepada Ibu Prof. Dr. Ir Latifah K Darusman, MSi yang telah mendorong penulis dalam menyelesaikan penelitian dan makalah ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. GRIESEL S *ET AL*. Mineral elements and essential trace elements in blood of seals of the north sea measured by total reflection X-ray fluorescence analysis. *Spectrochimica Acta* B61(2006)1158-1165.
2. ROSETTE G M. *Bioinorganic Chemistry : A Short Course*. Wiley Interscience. USA, 2002.
3. SABBIONI E, KUÈERA J, PIETRA R, VESTERBERG O. A critical review on normal concentrations of vanadium in human blood, serum, and urine. *The Science of the Total Environment* 188(1996)49-58.
4. GREENBERG *ET AL*NAA Methods for Determination of Nanogram Amounts of Arsenic in Biological Samples. *Journal of Rad. and Nuclear Chem* 269(2006)291-296.
5. ZDANKIEWICZ D.D, FASCHING J.L. Analysis of Whole Blood by Neutron Activation: A Search for a Biochemical Indicator of Neoplasia. *Clinical Chem.* 22(1976)1361-1365 [terhubung berkala]. <http://www.clinchem.org/cgi/content/abstract.htm> [9 Jan 2007].
6. RUKIHATI. *Analisis Aktivasi Nuklir untuk Studi Pencemaran Lingkungan Hidup*. Serpong: BATAN, 2007.
7. GLASCOCK MD. *An Overview of Neutron Activation Analysis*. Columbia: The University of Missouri Research Reactor Center, 2004
8. ALFASSI, Z.B., *Chemical Analysis by Nuclear Methods*. John Wiley and Sons, Inc, 1994.
9. SARI NME. Analisis tingkat kecemaran logam berat dalam air sungai Ciliwung dengan metode analisis aktivasi neutron [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, 2000
10. AMIEL, S. *Nondestructive Activation Analysis: With Nuclear Reactor and Radioactive Neutron Source*. Elsevier. Amsterdam, 1981.
11. LEE *ET AL*. Elemental Analysis of Korean Women's Blood Using Instrumental Neutron Activation Analysis. *Journal of Rad. and Nuclear Chem* 271(2006)155-158.
12. PEREZ *ET AL*.. Quantitative determination of 18 mineral element in blood serum: value in chronic-degenerative disease, previously diagnosed. *IPT Journal* (1984) [www.iptq.com](http://www.iptq.com) [22 februari 2006]
13. RAHMAN *ET AL*. 2004. Essential Trace Metal in Human Whole Blood in Relation to Environment. *Pakistani J. Med. Res.*

- 43(2)(2004).
14. TADJIKI ET AL. INAA Analysis of Blood  
Serum. *Elemental Science Journal*, 199(  
4) ( )309-316.