



VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN SIMULTAN KADAR Pb, Cd, Hg, As, Sn DALAM SUSU FORMULA BAYI DENGAN ICP-MS

INNIKE SINTAWATIE MAULIDYAH



**PROGRAM STUDI ILMU PANGAN
SEKOLAH PASCASARJANA
IPB UNIVERSITY
BOGOR
2021**



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul Validasi Metode Analisis Penetapan Simultan Kadar Pb, Cd, Hg, As, Sn dalam Susu Formula Bayi dengan ICP-MS adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan oleh penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada IPB University.

Bogor, Januari 2021

Innike Sintawatie Maulidyah
NIM. F251180151

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RINGKASAN

INNIKE SINTAWATIE MAULIDYAH. Validasi Metode Analisis Penetapan Simultan Kadar Pb, Cd, Hg, As, Sn dalam Susu Formula Bayi dengan ICP-MS. Dibimbing oleh DIDAH NUR FARIDAH dan HANIFAH NURYANI LIOE.

Susu formula bayi merupakan sumber nutrisi penting bagi awal kehidupan bayi yang dapat membantu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan bayi. Keberadaan logam berat dan Sn dalam susu menjadi perhatian dunia mengingat bayi merupakan kelompok umur yang rentan terhadap paparan logam berat dan Sn. Metode analisis logam berat dan Sn yang umum digunakan adalah dengan AAS. Metode ini diketahui mempunyai banyak kekurangan diantaranya sensitivitas instrumen yang kurang bagus. Oleh karena itu diperlukan instrumen lain yang lebih sensitif yaitu *inductively coupled plasma mass spectrometer* (ICP-MS).

Penggunaan metode ICP-MS ini mengacu pada metode baku AOAC 2015.01 dengan modifikasi diantaranya pada kondisi *microwave* dan penambahan HCl pada proses destruksi menggunakan *microwave*. Pada metode baku dengan modifikasi diperlukan proses validasi metode analisis untuk menjamin bahwa metode yang dihasilkan valid sehingga tujuan dari penelitian ini adalah melakukan validasi metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS dan aplikasinya pada produk lain yang memiliki matriks sama yaitu susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan.

Penelitian ini dilakukan dalam lima tahapan : (1) uji unjuk kerja instrumen ICP-MS untuk memastikan seluruh sistem yang ada di ICP-MS dalam kondisi yang baik, (2) penentuan metode analisis melalui uji orientasi metode pada tahap *microwave digestion* dan penentuan *ion identifier*, (3) validasi metode analisis, (4) estimasi ketidakpastian pengukuran (*uncertainty*) dan (5) aplikasi metode analisis yang telah tervalidasi pada produk lain yang memiliki matriks sama yaitu susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa instrumen ICP-MS berada dalam kondisi atau performa yang baik untuk menentukan kadar Pb, Cd, Hg, As, Sn dalam susu formula bayi dan metode analisis memiliki : a) linearitas metode yang baik pada rentang kadar 5–30 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As dan 5–30 µg/g untuk Sn dengan R^2 untuk Pb, Cd, Hg, As, Sn berturut-turut : 1,000; 1,000; 1,000; 0,998; 1,000; b) nilai limit deteksi metode : 0,74; 0,41; 0,08; 0,50; 0,69 ng/g, sedangkan limit kuantifikasi metode : 2,48; 1,36; 0,27; 1,67; 2,30 ng/g; c) presisi metode yang baik dengan $\%RSD < 2/3$ RSD Horwitz, demikian halnya dengan nilai rekoverti yang memenuhi syarat keberterimaan yaitu berada pada rentang 60%-115% untuk Pb, Cd, Hg, As dan 80-110% untuk Sn; d) reproduibilitas intralab dengan $\%RSD < RSD$ Horwitz; dan e) ketahanan terhadap perubahan kecil pada variabelnya. Nilai ketidakpastian diperluas menyumbang lebih dari 40% tingkat ketidakpastian pada pendekatan *bottom up* kecuali pada analit Sn yang hanya menyumbang 3,28%, sedangkan untuk pendekatan *top down* sebesar 21,01–27,35%. Metode analisis yang telah tervalidasi dapat diaplikasikan untuk analisis logam berat dan Sn pada matriks yang sejenis dengan susu formula bayi.

Kata kunci: ICP-MS, logam berat, Sn, validasi metode analisis, susu formula

SUMMARY

INNIKE SINTAWATIE MAULIDYAH. Validation of Analytical Method for Determination of Simultaneous Pb, Cd, Hg, As, Sn in Infant Formula Using ICP-MS. Supervised by DIDAH NUR FARIDAH and HANIFAH NURYANI LIOE.

Infant formula is a source of essential nutrients in infants' early life to help their growth and development. The presence of heavy metals and Sn in milk is become a global concern considering that infants are under the age group vulnerable to heavy metals and Sn exposure. The method of heavy metals and Sn analysis that is commonly used is AAS. However, the technique is lacking in several aspects, including the instrument's low sensitivity to detect heavy metals and Sn in very small concentration. Therefore, a more sensitive instrument (up to part per trillion), i.e. inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS), is necessary.

The ICP-MS was used in accordance with the standard method AOAC 2015.01 with several modifications, i.e. on the microwave condition and the addition of HCl during the digestion process. The modified standard method requires a validation process to ensure that the method is valid. This research aimed to validate the analysis method for simultaneous determination of the levels of Pb, Cd, Hg, As, and Sn in infant formula using ICP-MS and its application to other products with the same matrices, namely advanced and growth formula.

This study consists of five stages : 1) instrumental performance for heavy metals analysis by ICP-MS to ensure that all system in the ICP-MS are in good condition, 2) determination of the analytical method through the method orientation test at the microwave digestion stage and the determination of the ion identifier, 3) method validation, 4) quantifying uncertainty in analytical measurement, 5) the application of validated analytical methods to other products with the same matrices, namely advanced and growth formula.

The result shows that the ICP-MS was in good performance to determine the levels of Pb, Cd, Hg, As and Sn in infant formula and the analytical method has : a) a good linearity at working concentration 5–30 ng/g for Pb, Cd, Hg, As and 5–30 µg/g for Sn with R^2 value for Pb, Cd, Hg, As, Sn respectively : 1,000; 1,000; 1,000; 0,998; 1,000; b) the method limits of detection (LOD) were 0,74; 0,41; 0,08; 0,50; 0,69 ng/g, while the method's limits of quantification (LOQ) were 2,48; 1,36; 0,27; 1,67; 2,30 ng/g; c) the method was found precise with relative standard deviation (RSD) below 2/3 RSD Horwitz, and all the recovery values were found to fall within the acceptable range (60–115% for Pb, Cd, Hg, As and 80-110% for Sn); d) the % RSD intralab reproducibility was below RSD Horwitz; and e) the method was robust, indicating that it was unaffected by small changes in its variables. The expanded uncertainty value contributed more than 40% to the uncertainty level in the bottom up approach except for the Sn analyte which only contributed 3,28%, while for the top down approach it was 21,01–27,35%. The validated analytical method can be applied for the analysis of heavy metals and Sn in the similar matrices with infant formula.

Keywords: ICP-MS, heavy metals, Sn, method validation, infant formula



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2021

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN SIMULTAN KADAR Pb, Cd, Hg, As, Sn DALAM SUSU FORMULA BAYI DENGAN ICP-MS

INNIKE SINTAWATIE MAULIDYAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Pangan

**PROGRAM STUDI ILMU PANGAN
SEKOLAH PASCASARJANA
IPB UNIVERSITY
BOGOR
2021**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis :

1. **Dr. Dias Indrasti, S.TP., M.Sc.**

Judul Tesis : Validasi Metode Analisis Penetapan Simultan Kadar Pb, Cd, Hg, As, Sn dalam Susu Formula Bayi dengan ICP-MS

Nama : Innike Sintawatie Maulidyah

NIM : F251180151

Disetujui oleh

Pembimbing I

Dr. Didah Nur Faridah, S.TP., M.Si.



Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Hanifah Nuryani Lioe, M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi

Prof. Dr. Ir. Harsi D. Kusumaningrum

NIP 1964050219932004



Dekan Sekolah Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M. Eng

NIP 196004191985031002



Tanggal Ujian : 15 Januari 2021

Tanggal Lulus : 04 FEB 2021

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Januari 2020 hingga Juli 2020 ini adalah validasi metode analisis, dengan judul Validasi Metode Analisis Penetapan Simultan Kadar Pb, Cd, Hg, As, Sn dalam Susu Formula Bayi dengan ICP-MS.

Penghargaan dan terima kasih penulis ucapkan kepada komisi pembimbing yaitu Dr. Didah Nur Faridah, S.TP., M.Si. dan Prof. Dr. Ir. Hanifah Nuryani Lioe, M.Si. atas ilmu, nasehat, dan bimbingan yang diberikan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penyelesaian tesis ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Dias Indrasti, S.TP., M.Sc. selaku dosen penguji luar komisi pembimbing atas saran dan masukannya dalam penyusunan tesis ini. Disamping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia yang telah memberikan kesempatan dan dukungan materiil selama menempuh studi pada program studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana IPB University. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada Suami, Bapak, Ibu, Anak serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan dukungan, doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Januari 2021

Innike Sintawatie Maulidyah



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | x |
| I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.4 Manfaat | 3 |
| 1.5 Hipotesis Penelitian | 3 |
| 1.6 Ruang Lingkup Penelitian | 3 |
| II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Logam berat dan Timah dalam Susu Formula Bayi | 4 |
| 2.2 Keberadaan dan Toksisitas Logam Berat dan Timah | 4 |
| 2.3 Metode Analisis Logam Berat dan Timah dengan ICP-MS | 7 |
| 2.4 Validasi Metode Analisis | 10 |
| 2.5 Estimasi ketidakpastian pengukuran | 12 |
| III METODE | |
| 3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan | 13 |
| 3.2 Bahan dan Alat | 13 |
| 3.3 Metode Penelitian | 13 |
| 3.4 Prosedur Analisis | 24 |
| 3.5 Analisis Data | 26 |
| IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Uji Unjuk Kerja Instrumen ICP-MS untuk Analisis Logam Berat dan Sn | 27 |
| 4.2 Homogenitas Sampel | 28 |
| 4.3 Penentuan Metode Analisis melalui Uji Orientasi Metode | 29 |
| 4.4 Validasi Metode | 32 |
| 4.5 Ketidakpastian Pengukuran (<i>Uncertainty</i>) | 39 |
| 4.6 Aplikasi metode analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada produk lain yang memiliki matriks sama | 41 |
| V SIMPULAN DAN SARAN | 45 |
| DAFTAR PUSTAKA | 46 |
| LAMPIRAN | 51 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Data hasil pengujian logam berat dan Sn pada matriks susu | 5 |
| 2 | Limit deteksi berbagai elemen dengan ICP-MS | 8 |
| 3 | Fungsi komponen utama ICP-MS | 9 |
| 4 | Gangguan dalam ICP-MS dan cara mengatasinya | 10 |
| 5 | Seri larutan baku kerja | 16 |
| 6 | Kondisi <i>microwave</i> untuk destruksi sampel | 17 |
| 7 | Kondisi instrumen ICP-MS | 17 |
| 8 | Rekomendasi isotop untuk analisis logam berat dan Sn serta kemungkinan gangguan/ <i>interference</i> | 18 |
| 9 | Cara penentuan LOD dan LOQ | 19 |
| 10 | Keberterimaan rekovery | 20 |
| 11 | Kondisi <i>microwave</i> | 25 |
| 12 | Standar internal yang digunakan untuk proses kuantifikasi | 25 |
| 13 | Linearitas instrumen untuk analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn | 27 |
| 14 | Pembuktian nilai LOD dan LOQ analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn | 28 |
| 15 | Kondisi <i>microwave</i> untuk destruksi sampel | 31 |
| 16 | Nilai <i>recovery</i> pada 3 kondisi <i>microwave</i> | 31 |
| 17 | Nilai LOD dan LOQ metode untuk analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn | 32 |
| 18 | Linearitas metode untuk analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn | 34 |
| 19 | Presisi dan akurasi metode analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICPMS menggunakan CRM (n=8) | 35 |
| 20 | Presisi dan akurasi metode analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICPMS menggunakan sampel <i>spike</i> (n=6) | 36 |
| 21 | Hasil pengujian reproduibilitas intralab sampel susu formula bayi dengan <i>spiked</i> (n=3) | 36 |
| 22 | Rekapitulasi hasil uji normalitas data untuk reproduibilitas intralab | 37 |
| 23 | Rekapitulasi hasil uji <i>One Way ANOVA</i> dan <i>Kruskal-Wallis</i> analit Pb, Cd, Hg, As, dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2 dan 3 | 38 |
| 24 | Kesimpulan Uji <i>Tukey HSD</i> dan <i>Mann Whitney</i> untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2 dan 3 | 38 |
| 25 | Rekapitulasi perbandingan hasil analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada penambahan HNO_3 5 mL (ng/g) dan HNO_3 4,5 mL (ng/g) | 39 |
| 26 | Sumber-sumber ketidakpastian yang berkontribusi pada pendekatan <i>bottom up</i> | 41 |
| 27 | Perbandingan U_{exp} pada penelitian ini dengan publikasi lain | 42 |
| 28 | Kadar ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn dalam sampel susu formula lanjutan untuk usia 6-12 bulan (n=3) | 43 |
| 29 | Presisi dan <i>recovery</i> dengan sampel <i>spike</i> pada susu formula lanjutan untuk usia 6-12 bulan (n=3) | 43 |
| 30 | Kadar ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn dalam sampel susu formula pertumbuhan untuk usia 12-36 bulan (n=3) | 43 |
| 31 | Presisi dan <i>recovery</i> dengan sampel <i>spike</i> pada susu formula pertumbuhan untuk usia 12-36 bulan (n=3) | 44 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR GAMBAR

| | | |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Komponen dasar yang membentuk sistem ICP-MS | 9 |
| 2 | Diagram alir tahapan penelitian | 14 |
| 3 | Sumber-sumber ketidakpastian pengukuran | 21 |
| 4 | Segitiga matriks pangan | 24 |
| 5 | <i>Mass spectra</i> logam Pb, Cd, Hg, As dan Sn | 33 |
| 6 | Ketidakpastian relatif yang berkontribusi sebagai sumber kesalahan pada pendekatan <i>bottom up</i> | 40 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|---|----------------------------------------------------------|----|
| 1 | Hasil uji statistik untuk reproduibilitas intralab | 52 |
| 2 | Hasil uji-t untuk ketahanan metode (<i>robustness</i>) | 63 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu Formula bayi merupakan formula pengganti Air Susu Ibu (ASI) untuk bayi hingga usia 6 bulan. Susu formula bayi dibuat untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bayi pada bulan pertama kehidupannya. Disamping mengandung elemen esensial, susu formula bayi mungkin mengandung elemen non esensial yang bersifat toksik dan dapat membahayakan kesehatan bayi seperti logam berat. Logam berat bersifat *non-biodegradable* dan menjadi terakumulasi dalam rantai makanan melalui bio-akumulasi dan biomagnifikasi (Aslam *et al.* 2011). Kandungan logam berat dalam susu formula bayi telah banyak diteliti di berbagai negara diantaranya di Saudi Arabia menggunakan instrumen ICP-OES dengan hasil analisis untuk Pb, Cd, Hg dan As berturut-turut : $0,018 \pm 0,002$; $0,007 \pm 0,005$; tidak terdeteksi; dan $0,089 \pm 0,022$ ppm. Logam Sn juga terdeteksi pada beberapa sampel dengan konsentrasi rendah yaitu $0,054 \pm 0,037$ ppm (Khalifa dan Ahmad 2010). Logam berat dalam susu tidak dapat dihilangkan dengan mudah karena sifatnya lipofilik (Girma *et al.* 2014). Anak balita terbukti lebih sensitif terhadap Pb dan Cd dibandingkan orang dewasa (Tripathi *et al.* 1999).

Timah (Sn) tidak termasuk dalam golongan logam berat, tetapi Sn dipersyaratkan dalam Perka BPOM No.5 Tahun 2018. Logam Sn dalam produk pangan dapat berasal dari kemasan kaleng sebagai akibat dari terkikisnya lapisan Sn yang digunakan pada bagian dalam kaleng untuk melindungi kaleng dari korosi (Trandafir *et al.* 2012).

Bayi merupakan kelompok umur yang tergolong rentan terhadap paparan logam berat dan Sn karena jumlah konsumsi formula bayi yang relatif tinggi dan memiliki berat badan yang masih rendah sehingga paparan sedikit saja dari logam berat dan Sn akan menimbulkan efek terhadap kesehatan. Berdasarkan survei konsumsi makanan individu Indonesia tahun 2014, jumlah konsumsi susu formula balita sebesar 22,7 g per orang per hari untuk kelompok umur 0-59 bulan (Kemenkes 2014). Nilai ini jika dikalikan dengan konsentrasi logam berat dan Sn yang ada dalam susu formula bayi, kemudian dibagi dengan berat badan bayi akan diperoleh nilai paparannya.

Pemerintah Indonesia melalui Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia menetapkan batas maksimum cemaran logam berat dan Sn berdasarkan Perka BPOM Nomor 5 Tahun 2018 yaitu sebesar 0,01-0,02 mg/kg untuk logam berat dan 10 mg/kg untuk Sn. *The European Commission Regulation* (EC) no. 1881/2006 dan *Commission Regulation* (EC) no. 488/2014 merekomendasikan batas maksimum Pb dan Cd dalam susu formula bayi sebesar 0,02 dan 0,01 mg/kg (EC 2006; EC 2014).

Berbagai teknik analisis telah dikembangkan untuk menentukan konsentrasi logam berat dan Sn dalam produk pangan diantaranya adalah *atomic absorption spectrophotometry* (AAS) baik *Flame-AAS* maupun *Graphite Furnace-AAS*. Metode ini diketahui mempunyai banyak kekurangan diantaranya sensitivitas instrumen yang kurang bagus untuk mendeteksi logam berat dalam matriks pangan yang konsentrasinya sangat kecil serta memerlukan waktu analisis yang relatif lama (Helaluddin *et al.* 2016). Oleh karena itu diperlukan instrumen lain yang lebih sensitif untuk mendeteksi logam berat khususnya dalam matriks formula bayi yaitu *inductively coupled plasma mass spectrometer* (ICP-MS). Teknik ICP-MS telah



banyak digunakan untuk analisis logam berat dalam produk pangan karena memiliki selektivitas dan sensitifitas yang tinggi (hingga *part per triliun*) (Khan *et al.* 2014). ICP-MS juga dapat mendeteksi multielemen dalam satu waktu, tidak seperti AAS yang setiap pengujian memerlukan *hollow cathode lamp* untuk masing-masing logam. Perbedaan utama teknik analisis ICP-MS dengan AAS yang menyebabkan ICP-MS memiliki sensitivitas lebih baik adalah terletak pada tahapan ionisasi di dalam plasma. Pada tahap ini elektron akan terlepas dari orbitnya dan membentuk ion positif, sedangkan pada teknik AAS hanya sampai tahapan atomisasi untuk membentuk atom bebas (Thomas 2013).

Penggunaan metode ICP-MS ini mengacu pada metode baku AOAC 2015.01 dengan modifikasi pada kondisi *microwave* dan penambahan HCl pada proses destruksi basah menggunakan *microwave*. Pada metode baku dengan modifikasi diperlukan proses validasi metode analisis untuk menjamin bahwa metode yang dihasilkan valid sehingga dapat diaplikasikan untuk pengujian rutin di laboratorium dengan hasil analisis yang dapat dipertanggungjawabkan.

Pada penelitian ini dilakukan validasi metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS. Metode analisis yang telah tervalidasi sangat diperlukan untuk mendukung tugas pokok dan fungsi Pusat Pengembangan dan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM RI sebagai laboratorium rujukan nasional untuk pengujian logam serta mendukung program monitoring kontaminan logam berat dan Sn dalam produk pangan olahan di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan studi diet total : survei konsumsi makanan individu Indonesia tahun 2014, jumlah konsumsi susu formula balita sebesar 22,7 g per orang per hari untuk kelompok umur 0-59 bulan (Kemenkes 2014). Dengan pertimbangan tersebut, susu formula bayi dipilih karena bayi merupakan kelompok yang rentan terhadap kontaminasi logam berat (Pb, Cd, Hg, As) dan Sn. Bayi memiliki berat badan yang rendah sehingga paparan logam berat dan Sn dalam konsentrasi kecil sekalipun dapat memberikan dampak terhadap kesehatan. Saat ini metode analisis logam berat dan Sn yang banyak direkomendasikan adalah metode AAS karena sensitifitas yang baik dan biaya operasionalnya yang relatif murah. Seiring dengan waktu, regulasi yang dikeluarkan oleh pemerintah (BPOM) mensyaratkan batas maksimum cemaran logam berat khususnya Pb, Cd, Hg dan As dalam pangan olahan yang sangat rendah hingga 0,01 mg/kg, sehingga perlu didukung kemampuan laboratorium analisis. Oleh karena itu pengembangan dan validasi metode analisis dengan metode ICP-MS sangat diperlukan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum dari penelitian ini adalah melakukan validasi metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS dan aplikasinya pada matriks susu formula bayi dan produk lain yang memiliki matriks sama yaitu susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan.

Tujuan khususnya adalah :

- Menentukan unjuk kerja instrumen ICP-MS. Tahapan uji unjuk kerja ICP-MS meliputi linearitas instrumen, presisi respon instrumen, *iLOD* dan *iLOQ*.
- Menentukan metode analisis melalui uji orientasi metode pada tahap *microwave*

digestion dan menentukan *ion identifier* dalam uji ICP-MS menggunakan *spiking* pada sampel susu formula bayi.

- c. Melakukan validasi metode analisis pada matriks formula bayi. Tahapan validasi metode analisis meliputi LOD dan LOQ metode, linearitas metode, presisi dan akurasi dengan menggunakan CRM (*trueness*), presisi dan akurasi dengan uji *recovery*, reproduibilitas intra laboratorium serta *robustness*.
- d. Menentukan ketidakpastian pengukuran melalui pendekatan “*bottom up*” dan “*top down*”.
- e. Aplikasi metode analisis penetapan simultan Pb, Cd, Hg, As dan Sn menggunakan metode analisis yang telah tervalidasi pada produk susu formula dari pasar serta produk lain yang memiliki matriks sama yaitu susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah dihasilkannya metode analisis yang tervalidasi sehingga dapat diaplikasikan untuk pengujian rutin di PPPOMN, Badan POM RI dan memberikan informasi kandungan logam berat dan Sn pada matriks pangan yang sama.

1.5 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi menggunakan instrumen ICP-MS dengan pengembangan metode AOAC *Official Method* 2015.01 dapat memenuhi seluruh parameter validasi metode analisis sehingga dapat diaplikasikan untuk pengujian pada sampel susu formula bayi dan produk pangan lain yang memiliki matriks sama.

1.6 Ruang Lingkup Penelitian

- a. Validasi metode analisis dilakukan pada sampel susu formula bayi dan aplikasinya pada susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan.
- b. Parameter reproduibilitas hanya dilakukan untuk intra laboratorium.
- c. Parameter *robustness* hanya dengan melakukan perubahan terhadap volume HNO₃ yang digunakan untuk proses destruksi basah.



II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Berat dan Timah dalam Susu Formula Bayi

Susu merupakan produk makanan yang hampir lengkap komposisinya dalam diet manusia karena menyediakan semua komponen makronutrien seperti protein, lemak dan karbohidrat serta semua komponen mikronutrien seperti mineral, vitamin, dan enzim. Susu (baik ASI maupun susu formula) merupakan sumber nutrisi selama bulan pertama kehidupan bayi dan pada anak-anak yang sedang dalam masa pertumbuhan. Asupan susu yang tepat juga direkomendasikan untuk orang dewasa sebagai sumber kalsium untuk mempertahankan massa tulang sehingga dapat mencegah terjadinya osteoporosis (Kira *et al.* 2004). Konsumsi yang tinggi dan pentingnya mengetahui kandungan nutrisinya menyebabkan kualitas susu perlu dimonitor secara rutin.

Perusahaan susu maupun perusahaan pangan yang menggunakan susu sebagai komponen utamanya perlu melakukan analisis terhadap unsur dan kontaminan dalam susu untuk memenuhi persyaratan pelabelan, memantau kualitas gizi, dan melindungi terhadap kontaminasi oleh unsur-unsur yang berbahaya. Metode analisis yang andal diperlukan untuk memenuhi kebutuhan analisis tersebut. Susu mengandung total padatan terlarut (TDS) dalam jumlah yang tinggi, baik dari komponen organik maupun anorganik. Preparasi sampel dengan *microwave* sangat berguna memecah komponen organik, garam anorganik tetap dalam larutan pada konsentrasi tinggi (Kira *et al.* 2004). Susu mengandung fosfor (P), kalium (K), dan kalsium (Ca) yang tinggi, serta natrium (Na) dan magnesium (Mg) yang cukup tinggi. Di antara beragam teknik analisis yang tersedia, ICP-MS memiliki kemampuan untuk menganalisis unsur dengan cepat sekaligus simultan dalam satu waktu pengujian. Adapun hasil pengujian dari berbagai matriks susu dan produk olahannya dengan berbagai metode disajikan pada Tabel 1.

Suatu produk pangan dikategorikan memenuhi syarat atau tidak, harus dibandingkan terhadap peraturan yang berlaku. Di Indonesia standar logam berat dalam produk pangan mengacu pada Perka BPOM No 5 Tahun 2018. Dalam peraturan tersebut batas maksimum cemaran logam berat dan Sn sebesar 0,01-0,02 mg/kg untuk logam berat dan 10 mg/kg untuk Sn. *The European Commission Regulation* (EC) no. 1881/2006 dan *Commission Regulation* (EC) no. 488/2014 merekomendasikan batas maksimum Pb dan Cd dalam susu formula bayi sebesar 0,02 dan 0,01 mg/kg (EC 2006; EC 2014).

2.2 Keberadaan dan Toksisitas Logam Berat dan Timah

Logam adalah zat yang ditemukan secara alami di kerak bumi. Komposisi dan distribusi logam di atmosfer tergantung pada berbagai faktor lingkungan dan sifat fisik serta kimianya masing-masing (Tchounwou *et al.* 2012). Logam berat dianggap sebagai unsur logam yang memiliki berat atom lebih tinggi dan kepadatan spesifik lima kali lebih besar dari air. Dengan asumsi berat atomnya yang tinggi, maka berpengaruh juga terhadap toksisitasnya. Toksisitas logam berat terutama tergantung pada dosis yang diserap, rute paparan dan lamanya paparan dari masing-masing logam berat (Tchounwou *et al.* 2012). Paparan logam berat seperti timbal (Pb), kadmium (Cd), merkuri (Hg), arsenik (As) dapat menyebabkan efek buruk terhadap organisme (Silva *et al.* 2005). Efek buruk ini disebabkan logam berat tidak memiliki jalur metabolisme, bersifat bioakumulasi dan proses ekskresi yang lambat

Tabel 1 Data hasil pengujian logam berat dan Sn pada matriks susu

| No | Sampel | Metode | Hasil Analisis | Referensi |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | Susu sapi | Flame AAS | Pb : Tidak terdeteksi, LOD : 0,069 µg/g Cd : Tidak terdeteksi, LOD : 0,016 µg/g | Belete <i>et al.</i> 2014 |
| 2 | Susu | Flame AAS | Pb : 0,214 ± 0,02 µg/g Cd : 0,051 ± 0,005 µg/g | Meshref <i>et al.</i> 2014 |
| 3 | <i>Dairy farm milk</i> <i>Market raw milk</i> <i>Vendor milk</i> | AAS | Pb : 0,716 ng/L Cd : 0,871 ng/L Hg : 0,911 ng/L Pb : 2,001 ng/L Cd : 3,39 ng/L Hg : 5,79 ng/L Pb : 2,11 ng/L Cd : 4,11 ng/L Hg : 6,37 ng/L | Abdl Khalik <i>et al.</i> 2013 |
| 4 | • Susu bubuk Susu Formula Bayi Susu Bubuk • Susu Cair Susu segar (Fresh milk) <i>Processed milk</i> | AAS | Pb : 0,01-0,03 µg/g Cd : 0,09-1,18 µg/g Pb : 0,01-0,03 µg/g Cd : 0,04-1,20 µg/g Pb : 0,0001-0,015 µg/g Cd : 0,01-0,25 µg/g Pb : 0,0001-0,015 µg/g Cd : 0,01-0,09 µg/g | Lutfullah <i>et al.</i> 2014 |
| 5 | Susu formula bayi | AAS | Pb < 0,0004 µg/g Cd < 0,0002 µg/g | Akhtar <i>et al.</i> 2017 |
| 6 | Susu | AAS | Cd : 0,001 µg/g Pb : 0,014 µg/g | Ismail <i>et al.</i> 2015 |
| 7 | Susu dan produk susu | AAS | Rata-rata dalam Susu dan produk susu : Pb : 0,008 dan 0,017 µg/g Cd : 0,001 dan 0,002 µg/g As : 0,005 dan 0,009 µg/g Hg : 0,001 dan 0,002 µg/g | Starska <i>et al.</i> 2011 |
| 8 | Susu segar | GF-AAS | Pb : 2,12-37,36 µg/L | Oliveira <i>et al.</i> 2017 |

Tabel 1 Data hasil pengujian logam berat dan Sn pada matriks susu (Lanjutan)

| No | Sampel | Metode | Hasil Analisis | Referensi |
|----|----------------------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| 9 | Susu sapi segar | AAS | Pb : 96,25 ng/mL | Nejatolahi <i>et al.</i> 2014 |
| 10 | Susu sapi segar | AAS | Rata-rata konsentrasi Pb dan Cd : Pb : 0,007 ± 0,001 µg/g Cd : 0,001 ± 0,001 µg/g | Najarnezhad <i>et al.</i> 2015 |
| 11 | Susu | AAS | Pb : 7,9 ng/mL | Tajkarimi <i>et al.</i> 2008 |
| 12 | Susu formula bayi | ICP-OES | Pb : 0,018±0,002 µg/g Cd : 0,007±0,005 µg/g Hg : ttd As : 0,089±0,022 µg/g Sn : 0,054±0,037 µg/g | Khalifa dan Ahmad 2010 |
| 13 | Susu segar (raw milk) | ICP-OES | Pb : 0-0,004 µg/g | Babu <i>et al.</i> 2018 |
| 14 | Susu formula bayi dan susu bubuk | ICP-MS | Dari 43 susu bubuk yang dianalisis, terdapat satu sampel (2,3%) terkontaminasi Pb dengan kadar 240 ng/g bobot kering | Sager <i>et al.</i> 2018 |
| 15 | Susu segar (raw milk) | ICP-MS | Pb : 8,00 to 19,7 ng/g Cd : < 0,006 ng/g | Ataro <i>et al.</i> 2008 |
| 16 | Plain Milk Skimmed Milk | ICP-MS | As : 1,90 ± 0,068 ng/g Cd : 2,38 ± 0,023 ng/g Pb : 3,35 ± 0,076 ng/g As : 0,58 ± 0,047 ng/g Cd : 2,22 ± 0,024 ng/g Pb : 13,86 ± 0,038 ng/g | Khan <i>et al.</i> 2014 |

Sumber : Belete *et al.* 2014; Meshref *et al.* 2014; Abdl Khalik *et al.* 2013; Lutfullah *et al.* 2014; Akhtar *et al.* 2017; Ismail *et al.* 2015; Starska *et al.* 2011; Oliveira *et al.* 2017; Nejatolahi *et al.* 2014; Najarnezhad *et al.* 2015; Tajkarimi *et al.* 2008; Khalifa dan Ahmad 2010; Babu *et al.* 2018; Sager *et al.* 2018; Ataro *et al.* 2008; Khan *et al.* 2014.

sehingga menyebabkan proses seluler di dalam tubuh menjadi terganggu yang berlanjut pada terjadinya kerusakan pada sejumlah organ.

Timbal (Pb) berdasarkan Gillis *et al.* (2012) berperan dalam penurunan tingkat IQ, memperlambat perkembangan *neurobehavrial* dan mempengaruhi berbagai perkembangan kognitif pada anak-anak. Toksisitas akut timbal menyebabkan cacat pada organ reproduksi serta efek hematologis (Vaziri 2008).

Konsumsi makanan pokok seperti beras, gandum, sayuran berdaun lainnya serta makanan laut seperti ikan, tiram berkontribusi signifikan terhadap paparan

kadmium pada manusia (Sarkar *et al.* 2013; Bernard 2008). Organ target toksisitas kadmium pada hewan adalah hati, ginjal, paru-paru, testis, prostat, jantung, sistem saraf dan sistem kekebalan tubuh (Bernard 2008).

Merkuri (Hg) merupakan logam berat yang sangat berbahaya dan bersifat bioakumulatif (Patrick 2006; Bernhoft 2012). Keracunan merkuri dapat menyebabkan kerusakan ginjal, paru-paru, fetus dan terutama sistem saraf, menyebabkan tremor, masalah pada ingatan serta gangguan pendengaran (Jain *et al.* 2017).

Arsen (As) Ditemukan dalam dua bentuk : anorganik dan organik. Bentuk anorganik utama adalah *arsenit* (AsIII) dan *arsenate* (AsV), sedangkan bentuk organik adalah asam *monomethylarsenic* (MMA) dan asam *dimethylarsenic* (DMA). Arsen dalam bentuk anorganik diketahui lebih toksik dibandingkan dengan bentuk lainnya (Jain *et al.* 2017). Air tanah diketahui menjadi sumber utama kontaminasi arsen (Koki *et al.* 2015; Ratnaike 2003; Hong *et al.* 2014). Dalam beberapa laporan, pada populasi yang terpapar arsenik melalui air minum menunjukkan risiko kematian yang tinggi akibat kanker ginjal, kandung kemih, paru-paru dan kulit dan risiko ini semakin meningkat dengan meningkatnya paparan (Jain *et al.* 2017).

Timah (Sn) di alam berada dalam bentuk logam murni maupun campuran, timah anorganik maupun timah organik (*organotin*), masing-masing bentuk tersebut akan mempengaruhi bioavailabilitasnya (Caussy *et al.* 2003). Sn pada produk pangan difokuskan sebagai akibat terjadinya migrasi dari kemasan kaleng yang dilapisi Sn. Beberapa laporan menyebutkan terjadinya iritasi usus dan muntah-muntah pada manusia yang mengkonsumsi pangan atau minuman yang dikalengkan dan mengandung Sn dalam konsentrasi yang tinggi (Knappek *et al.* 2009). Konsentrasi Sn yang tinggi juga berpengaruh terhadap metabolisme *Zinc* (Madrakian dan Ghazizadeh 2009). Beberapa faktor yang mempengaruhi proses migrasi Sn dari kaleng ke pangan diantaranya adalah jenis dan komposisi produk pangan, jenis kaleng, prosedur pengalengan, serta suhu dan lamanya penyimpanan produk (Perring dan Basic-Dvorzak 2002).

Mengingat toksisitas dari logam berat dan Sn tersebut, maka kandungan dalam produk pangan perlu dimonitor untuk menjamin keamanan dan kualitas produk yang beredar. Beberapa teknik analisis logam berat dan Sn dalam pangan diantaranya spektrofotometri, *X-ray fluoresen spectrometry*, *atomic absorption spectrophotometry* dan metode elektrokimia. Metode *spectrofluorometry* dan *inductively coupled plasma atomic emission spectrometry* (ICP-AES dan ICP-OES) juga telah banyak dilaporkan. *Inductively coupled plasma mass spectrometry* (ICP-MS) merupakan metode terkini untuk analisis logam berat dan Sn dalam pangan karena tingkat sensitivitas dan selektifitasnya yang tinggi.

2.3 Metode analisis logam berat dan timah dengan ICP-MS

Prinsip umum analisis logam berat dan Sn dalam matriks pangan adalah sampel didestruksi untuk menghilangkan komponen organik yang terdapat dalam matriks pangan. Proses destruksi sampel ini merupakan tahapan kritis dalam analisis logam berat dan Sn karena dapat menyebabkan kontaminasi maupun kehilangan analit yang berkontribusi terhadap terjadinya kesalahan sistematis (Kira dan Maihara 2005). Larutan hasil destruksi yang bebas dari komponen organik





ditandai dengan terbentuknya larutan bening. Larutan tersebut kemudian diencerkan dan selanjutnya siap untuk diinjekkan ke dalam instrumen ICP-MS

ICP-MS merupakan instrumen terkini untuk menentukan unsur dan isotop yang terkandung dalam suatu matriks sampel secara simultan. Alat ini merupakan gabungan antara *inductively coupled plasma* (ICP) yang merupakan sumber ionisasi dan *mass spectrometry* (MS) sebagai *mass analyzer*. Ada beberapa tipe *mass analyzer*, namun yang umum digunakan adalah *magnetic analyzer* dan *quadropole analyzer* (Syarbaini 2015). Prinsip kerja ICP-MS adalah mengubah atom dari unsur yang ada dalam sampel menjadi bentuk ion, selanjutnya ion ditransmisikan ke dalam *mass analyzer* untuk dipisahkan berdasarkan massa terhadap rasio muatan (m/z). Beberapa keuntungan penggunaan ICP-MS adalah limit deteksi yang sangat rendah seperti yang tertera pada Tabel 2, mampu menganalisis multielemen secara dalam waktu yang cepat serta dapat digunakan untuk mengukur isotop.

Logam pada umumnya memiliki jumlah isotop lebih dari satu, kecuali As yang hanya memiliki satu isotop. Dalam menentukan kadar suatu unsur dalam produk pangan diperlukan pemilihan isotop untuk proses kuantifikasinya. Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam memilih isotop diantaranya adalah konsentrasi analit, konsentrasi pengganggu/*interference*, *abundance*/kelimpahannya di alam pada massa yang dipilih, serta memilih isotop yang bebas dari gangguan atau tanpa *overlap* dengan isotop atau poliatomik dari unsur lain (Thomas 2013).

Tabel 2 Limit deteksi berbagai elemen dengan ICP-MS

| Elemen | Limit Deteksi (ppt) |
|-------------------------------|---------------------|
| U, Cs, Bi | <10 |
| Ag, Be, Cd, Rb, Sn, Sb, Au | 10-50 |
| Ba, Pb, Se, Sr, Co, W, Mo, Mg | 50-100 |
| Cr, Cu, Mn | 100-200 |
| Zn, As, Ti | 400-500 |
| Li, P | 1-3 ppb |
| Ca | <20 ppb |

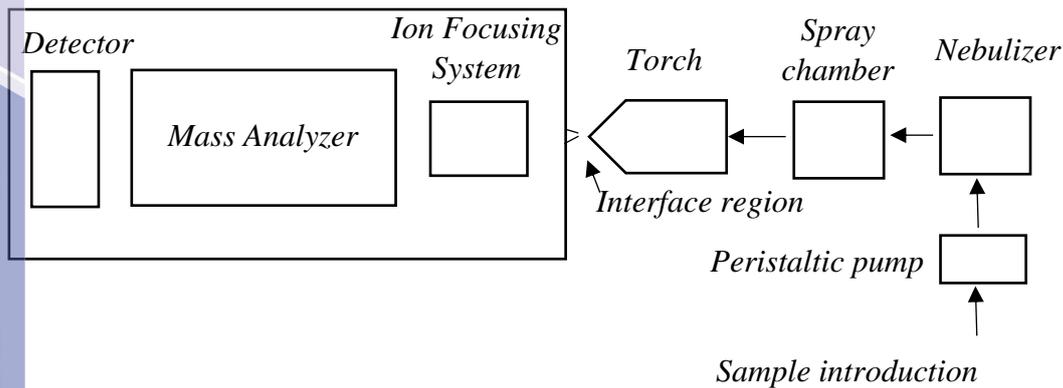
Sumber : Batsala *et al.* 2012

Terdapat beberapa desain ICP-MS yang ada saat ini, namun secara umum mempunyai komponen dasar dan fungsi yang sama. Komponen dasar tersebut adalah *sample introduction system* yang terdiri dari pompa peristaltik, *nebulizer* dan *spray chamber*; *plasma source* yang terdiri dari *torch*, *coil*, *RF power supply*; *Interface region* yang terdiri dari *skimmer cone*, *sample cone* dan pompa vakum; *Ion focusing system*; *mass analyzer* dan detektor (Gambar 1) (Thomas 2013). Adapun fungsi dari masing-masing bagian tersebut disajikan dalam Tabel 3.

Dalam analisis logam berat menggunakan ICP-MS, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan diantaranya adalah adanya gangguan/*interference* yang dapat mempengaruhi proses deteksi analit target dalam sampel. Adapun gangguan tersebut adalah gangguan spektral dan gangguan matriks. Tabel 4 menyajikan jenis gangguan dalam ICP-MS, sumber beserta cara mengatasinya.

Pengetahuan tentang fungsi masing-masing komponen serta berbagai macam gangguan yang ada di dalam sistem ICP-MS sangat diperlukan sebelum melakukan

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 1 Komponen dasar yang membentuk sistem ICP-MS (Thomas 2013)

Tabel 3 Fungsi komponen utama ICP-MS

| Komponen | Fungsi |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Peristaltic pump</i> | Mengalirkan sampel secara konstan dengan kecepatan 1 mL/menit ke dalam sistem ICP-MS. |
| <i>Nebulizer</i> | Mengubah sampel yang berbentuk cair menjadi aerosol/kabut. |
| <i>Spray Chamber</i> | Menyeleksi aerosol yang masuk ke dalam sistem plasma (aerosol yang berukuran besar akan dikeluarkan); membantu menstabilkan aliran dan suhu sampel yang keluar dari <i>nebulizer</i> ; meminimalkan jumlah pelarut yang masuk ke dalam plasma. |
| <i>Plasma source</i> | Pada bagian plasma ini, sampel akan mengalami proses desolvasi, vaporisasi, atomisasi dan ionisasi dengan temperatur yang sangat tinggi hingga 10000°K. |
| <i>Interface region</i> | Memindahkan ion secara efisien dan konsisten dari plasma yang bertekanan udara biasa (760 Torr) ke <i>mass spectrometer</i> yang bertekanan vakum (10^{-6} Torr); menghubungkan plasma yang besuhu tinggi dengan <i>ion focusing</i> yang bekerja pada suhu kamar. |
| <i>Ion focusing system</i> | Memfokuskan aliran ion dan memindahkan sebanyak mungkin ion analit dari <i>interface</i> ke <i>mass separator</i> ; membuang ion dari matriks yang bukan analit target; menghentikan semua spesi netral dan foton karena dapat meningkatkan <i>noise background</i> yang mampu menurunkan kemampuan deteksi; membuang semua partikulat yang mungkin terbentuk selama proses di dalam plasma karena dapat menyebabkan <i>signal</i> menjadi tidak stabil dan bahkan dapat mengendap pada lensa. |
| <i>Mass Analyzer</i> | Memisahkan ion berdasarkan massa per muatan (m/z); memisahkan ion analit dari non analit, matriks, pelarut dan ion-ion argon. Ada 3 jenis <i>mass analyzer</i> : <i>Quadropole</i> ; <i>Double focusing magnetic sector</i> ; <i>Time of flight</i> |
| <i>Detector</i> | Mendeteksi ion analit |

Sumber : Thomas 2013 dan Batsala *et al.* 2012

Tabel 4 Gangguan dalam ICP-MS dan cara mengatasinya

| Gangguan/Interference | Sumber | Cara mengatasi |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Gangguan spektral | <ol style="list-style-type: none"> Gangguan poliatomik : <i>overlap</i> dengan ion yang terbentuk dari kombinasi ion dan gas, pelarut sampel atau matriks. Misalnya : $^{40}\text{Ar } ^{16}\text{O}$ <i>overlap</i> dengan ^{56}Fe; $^{40}\text{Ar } ^{35}\text{Cl}$ <i>overlap</i> dengan ^{75}As Gangguan isobar : <i>overlap</i> dengan unsur lain yang memiliki isotop dengan massa yang sama. Misalnya : ^{114}Sn <i>overlap</i> dengan ^{114}Cd Spesi <i>doubly charge</i> : unsur yang terionisasi dua kali. Misalnya : $^{136}\text{Ba}^{2+}$ <i>overlap</i> dengan $^{68}\text{Zn}^+$ | <ol style="list-style-type: none"> Memilih isotop yang bebas dari gangguan Mengoreksi sinyal dengan persamaan matematika Mengatur kondisi plasma dengan teknologi <i>cool/cold plasma</i> Menggunakan teknologi <i>collision-reaction cell</i> Menggunakan <i>high resolution mass analyzers</i> |
| Gangguan matriks dan fisik | <ol style="list-style-type: none"> Adanya perbedaan butiran aerosol, viskositas dan tegangan permukaan yang akan mempengaruhi aliran sampel Perbedaan konsentrasi pelarut dalam matriks yang akan mempengaruhi suhu ionisasi dalam plasma | <ol style="list-style-type: none"> <i>Matrix removal</i> Standar adisi <i>Matrix match calibration</i> <i>Isotop dilution</i> Penggunaan standar internal |

Sumber : Thomas 2013

analisis menggunakan instrumen ICP-MS. Dalam melakukan analisis suatu analit pada produk pangan, memerlukan metode analisis yang andal. Oleh karena itu proses validasi metode analisis sangat penting dilakukan untuk menjamin hasil analisis yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan.

2.4 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis didefinisikan sebagai suatu proses mendefinisikan persyaratan analitis, dan mengkonfirmasikannya melalui pemeriksaan dan penyediaan bukti-bukti yang objektif sehingga suatu metode analisis dipertimbangkan memiliki kemampuan yang konsisten sesuai dengan tujuan penggunaannya (Magnusson dan Ornemark 2014). Suatu metode harus divalidasi untuk menunjukkan bahwa karakteristik kinerjanya memadai sehingga dapat digunakan untuk tujuan tertentu di laboratorium. Sebagai contoh yang dinyatakan dalam Klausul 5.4.5.2 ISO/IEC 17025 bahwa laboratorium harus memvalidasi: metode non-standar; metode yang dirancang atau dikembangkan oleh laboratorium; metode standar yang digunakan di luar ruang lingkup yang dimaksudkan; serta

modifikasi dari metode standar. Validasi juga diperlukan untuk menunjukkan kesetaraan hasil yang diperoleh dengan dua metode, misalnya metode yang baru dikembangkan dan metode standar/peraturan yang ada. Parameter umum yang digunakan dalam proses validasi metode analisis adalah : *Limit of Detection* (LOD); *Limit of Quantification* (LOQ); linearitas; presisi; akurasi (*Trueness*); *robustness* (Magnusson dan Ornemark 2014).

2.4.1 *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ)

Dalam pengukuran yang dilakukan pada konsentrasi rendah, terdapat konsep umum yang perlu dipertimbangkan yaitu nilai kritis atau batas untuk menentukan keputusan; konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi oleh metode pada tingkat kepercayaan tertentu (LOD), dan konsentrasi terendah yang dapat diterima untuk aplikasi analisis tertentu. Konsep ketiga ini biasanya disebut sebagai batas kuantifikasi (LOQ) (*Commission Decision 2002/657/EC*). Dalam validasi metode yang paling umum digunakan adalah nilai LOD dan LOQ. Nilai batas deteksi juga harus dibedakan antara batas deteksi instrumen dan batas deteksi metode. Batas deteksi instrumen tidak didasarkan pada analisis sampel, tetapi menggunakan *blank reagent* dan diinjeksikan langsung ke instrumen, sedangkan batas deteksi metode harus didasarkan pada analisis sampel yang telah dianalisis dan dihitung dengan persamaan yang sama seperti pada sampel uji. Sampel yang digunakan untuk memperkirakan nilai LOD dan LOQ adalah: a) sampel kosong (*blank sample*), yaitu matriks yang tidak mengandung analit yang akan dideteksi, atau b) sampel uji dengan konsentrasi analit yang mendekati atau di bawah LOD yang diharapkan. Jika *blank sample* atau sampel uji pada konsentrasi rendah tidak tersedia, dapat menggunakan blanko reagen, dan jika blanko reagen ini tidak melalui seluruh prosedur pengukuran (diinjeksikan langsung ke instrumen), hasil perhitungan memberikan nilai LOD/LOD instrumen.

2.4.2 Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk memberikan respon terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Semakin tinggi konsentrasi analit, maka respon dari instrumen atau metode analisis akan semakin tinggi. Linearitas terdiri dari linearitas instrumen dan linearitas metode. Dalam linearitas instrumen, instrumen akan merespon sebanding dengan kenaikan konsentrasi analit dalam larutan standar, sedangkan pada linearitas metode respon instrumen sebanding dengan kenaikan konsentrasi analit dalam sampel. Pengukuran linearitas akan menghasilkan persamaan kurva kalibrasi.

2.4.3 Presisi (Ketelitian)

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan antar pengulangan. Presisi dapat dinyatakan sebagai riptabilitas dan reproduibilitas. Riptabilitas diharapkan memberikan variasi terkecil dari hasil pengukuran yang dilakukan oleh seorang analis dengan instrumen yang sama dan dalam waktu yang tidak terlalu lama. Riptabilitas dinyatakan dalam nilai RSD yang umumnya menggunakan batasan keberterimaan $< 2/3$ RSD Horwitz.

Reproduibilitas baik intra laboratorium maupun inter laboratorium akan memberikan variasi yang lebih besar. Reproduibilitas intra laboratorium



ditentukan dengan cara menganalisis sampel dengan analisis, laboratorium, instrumen dan sampel yang sama tetapi dilakukan pada waktu yang berbeda, sedangkan reproduibilitas antar laboratorium ditentukan dengan cara menganalisis sampel yang sama tetapi dilakukan oleh analisis, laboratorium, serta instrumen yang berbeda. Laboratorium yang dipilih harus setara kemampuannya dan telah terakreditasi oleh komisi akreditasi. Reproduibilitas dinyatakan dalam nilai RSD yang umumnya menggunakan batasan keberterimaan $< \text{RSD Horwitz}$.

2.4.4 Akurasi (ketepatan) atau *Trueness*

Akurasi merupakan ukuran yang menggambarkan seberapa dekat hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya. Akurasi dapat dinyatakan dengan menggunakan *Certified Reference Material (CRM)*. Apabila CRM tidak tersedia, maka akurasi dapat dilakukan dengan uji *recovery* menggunakan *blank sample* yang di *spike* dengan analit pada konsentrasi tertentu. Apabila *blank sample* tidak tersedia maka dapat digunakan sampel yang terdapat di pasar.

3.4.5 *Robustness*

Robustness merupakan ukuran kemampuan suatu metode analisis untuk tidak terpengaruh oleh variasi kecil dalam metode analisis. *Robustness* memberikan indikasi keandalan suatu metode selama penggunaan secara normal.

Suatu metode analisis yang akan digunakan di laboratorium harus memenuhi seluruh parameter validasi untuk menjamin validitas setiap nilai dari suatu pengukuran kuantitatif. Parameter validasi dapat digunakan untuk mengestimasi ketidakpastian pengukuran yang harus ditentukan dalam validasi metode analisis. Estimasi ketidakpastian pengukuran diperlukan untuk mengetahui seberapa besar ketelitian hasil pengukuran dan nilai ini wajib dicantumkan dalam sertifikat pengujian sebagai salah satu yang dipersyaratkan dalam ISO 17025 tahun 2017.

2.5 Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

Ketidakpastian adalah suatu parameter yang menetapkan rentang nilai yang didalamnya diperkirakan terdapat nilai benar hasil pengukuran. Perhitungan ketidakpastian dilakukan dengan memadukan semua kesalahan yang diketahui menjadi suatu rentang tunggal. Sumber-sumber ketidakpastian berasal dari sampling, gangguan matriks, kondisi lingkungan, kalibrasi peralatan, instrumen, prosedur preparasi contoh, nilai referensi, variasi acak dan personil (EURACHEM 2012). Sumber informasi untuk pengukuran ketidakpastian dapat diperoleh dari spesifikasi pabrik atau sertifikat kalibrasi alat, data pustaka atau *handbook* dan *logbook* laboratorium atau data validasi metode.

Tahapan proses estimasi ketidakpastian pengukuran adalah : membuat model sistem pengujian, mengidentifikasi sumber ketidakpastian, mengkuantifikasi komponen ketidakpastian, menggabungkan komponen ketidakpastian dan menghitung ketidakpastian diperluas (EURACHEM 2012; Magnusson *et al.* 2017; SAC 2008; SAC 2019). Terdapat dua pendekatan yaitu *top down* dan *bottom up*. Perbedaannya pada pendekatan *top down*, perhitungan ketidakpastian menggunakan real data pengujian, sedangkan pendekatan *bottom up*, ketidakpastian dihitung dari sumber-sumber yang berkontribusi terhadap ketidakpastian.

III METODE

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM RI di Jakarta. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2020 sampai dengan Juli 2020.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel susu formula bayi, ERM BD 150 *Certified Reference Material "Skimmed Milk Powder"* dari *European Commission, Belgia*, aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 M Ω . Bahan kimia : HNO₃ 65% *suprapur*, HCl 37% *for analysis*, asam asetat glasial 100% *anhydrous for analysis*, dan H₂O₂. Semua bahan kimia dari Merck Co. (Darmstadt, Jerman). Larutan standar : Pb 1000 μ g/mL, Cd 1000 μ g/mL, Hg 1000 μ g/mL, As 1000 μ g/mL, Sn 1000 μ g/mL. Semua larutan standar menggunakan *Certipur ICP Standard Merck Co.* (Darmstadt, Jerman). Larutan campuran standar internal Bi, Ge, In, Li, Lu, Rh, Sc, Tb dengan konsentrasi 100 μ g/mL dari Agilent.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung sentrifugal berbahan dasar polipropilen merek *Nunc*, neraca analitik merek *Mettler Toledo*, *Microwave Digestion CEM MARS Xpress*, Seperangkat alat ICP-MS *Thermoscientific iCAP RQ*.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam lima tahapan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Tahapan pertama yang dilakukan adalah uji unjuk kerja instrumen ICP-MS untuk memastikan seluruh sistem yang ada di ICP-MS dalam kondisi yang baik. Selanjutnya dilakukan penentuan metode analisis melalui uji orientasi metode pada tahap *microwave digestion* dan penentuan *ion identifier* dalam uji ICP-MS menggunakan sampel *spike* dengan mengacu pada metode baku AOAC *Official Method 2015.01* yang dimodifikasi pada tahap persiapan sampel dengan penambahan HCl (Tahap kedua). Uji kadar air dalam sampel juga dilakukan pada tahap dua ini. Selanjutnya tahap ketiga yaitu proses validasi metode analisis dan tahap keempat adalah estimasi ketidakpastian pengukuran (*uncertainty*) melalui pendekatan *bottom up* dan *top down*. Tahap terakhir dari penelitian ini adalah aplikasi metode analisis yang telah tervalidasi tersebut untuk analisis simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dengan ICP-MS pada produk lain yang memiliki matriks sama yaitu susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan.

3.3.1 Tahap 1 : Uji Unjuk Kerja ICP-MS

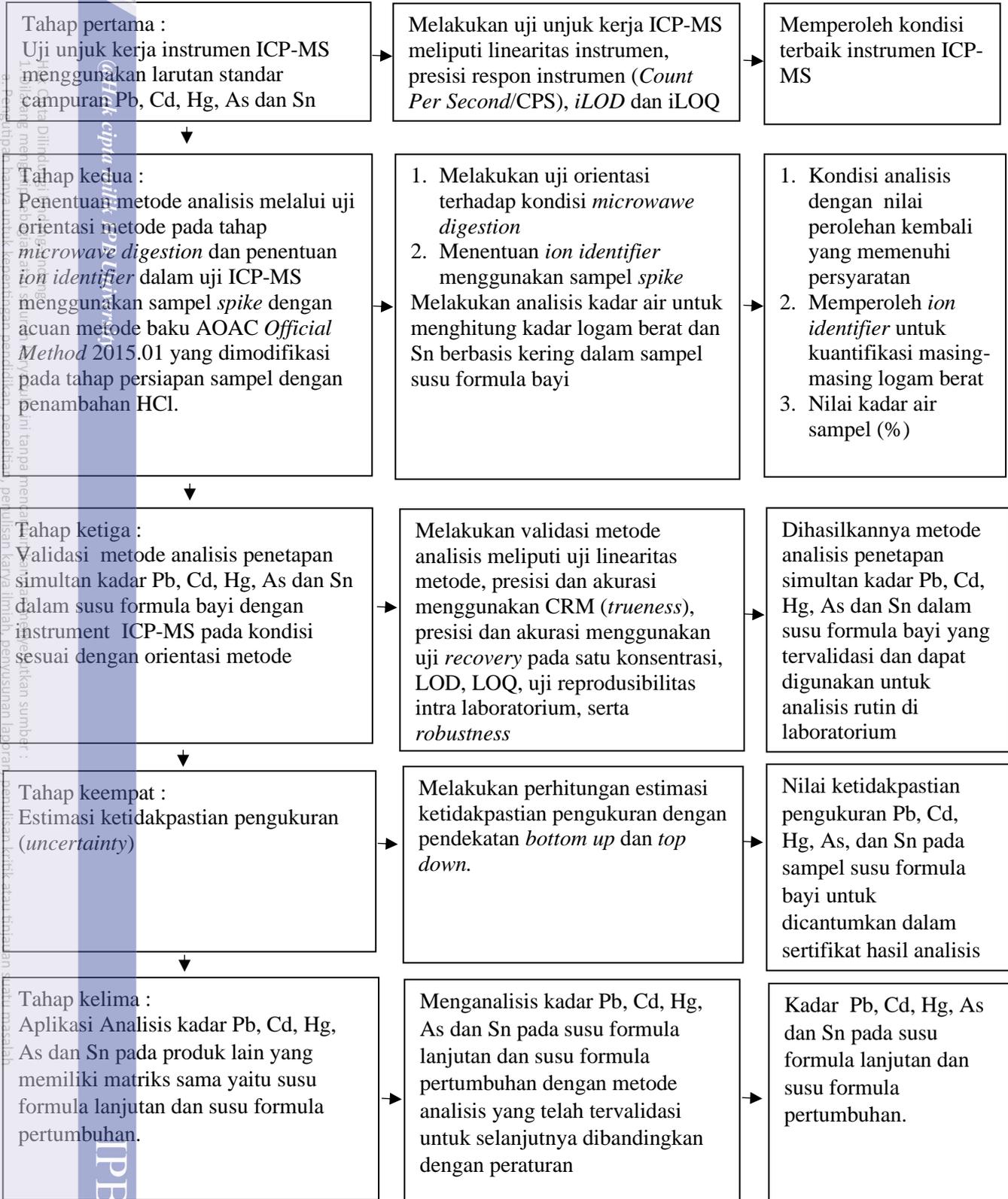
Uji unjuk kerja instrumen dilakukan untuk mengetahui kondisi instrumen sebelum digunakan untuk analisis. Uji unjuk kerja instrumen menggunakan larutan baku tanpa matriks sampel. Adapun parameter ujinya meliputi linearitas instrumen, presisi respon instrumen (rasio intensitas analit dengan standar internal), limit deteksi instrumen (iLOD) dan limit kuantifikasi instrumen (iLOQ).



Tahapan Penelitian

Kegiatan

Luaran



Gambar 2 Diagram alir tahapan penelitian

a) Linearitas Instrumen

Pengujian dilakukan dengan menginjektikan larutan baku kerja campuran dengan 8 tingkat konsentrasi yaitu 0; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; dan 5,0 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 0; 10; 50; 100; 150; 200; 250; dan 300 ng/mL untuk Sn. Adapun tahapan persiapan larutan baku sebagai berikut :

Digunakan larutan baku induk Pb, Cd, Hg, As dan Sn konsentrasi 1000 µg/mL yang telah tersedia dari Merck Co. (Darmstadt, Jerman). Larutan baku antara I Pb, Cd, Hg dan As konsentrasi 50 µg/mL dibuat dengan cara dipipet 2,5 mL larutan baku induk Pb, Cd, Hg, dan As dimasukkan ke dalam tabung sentrifugal 50 mL, ditambahkan 0,725 mL HNO₃ 65% *suprapur* dan diencerkan dengan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ hingga 50 mL. Untuk larutan baku antara I Sn konsentrasi 50 µg/mL diperoleh dengan cara dipipet 2,5 mL larutan baku induk Sn dimasukkan ke dalam tabung sentrifugal 50 mL, kemudian ditambahkan 0,725 mL HNO₃ 65% *suprapur* dan diencerkan dengan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ hingga 50 mL.

Larutan baku antara II Pb, Cd, Hg, As dengan konsentrasi 2,5 µg/mL dibuat dengan cara dipipet 2,5 mL larutan baku antara I, dimasukkan ke dalam tabung sentrifugal 50 mL, kemudian ditambahkan 0,725 mL HNO₃ 65% *suprapur* diencerkan dengan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ hingga 50 mL.

Larutan baku antara III Pb, Cd, Hg, As dengan konsentrasi 0,25 µg/mL dibuat dengan cara dipipet 5,0 mL larutan baku antara II, dimasukkan ke dalam tabung sentrifugal 50 mL, kemudian ditambahkan 0,725 mL HNO₃ 65% *suprapur* diencerkan dengan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ hingga volume 50 mL. Untuk larutan baku kerja dibuat dengan kadar dan cara pengenceran seperti yang tertera dalam Tabel 5.

Larutan baku kerja diinjektikan ke ICP-MS dan respon alat berupa intensitas analit (CPS) selanjutnya digunakan untuk membuat kurva linearitas hubungan antara konsentrasi analit (sumbu x) dan rasio intensitas analit dengan standar internal (sumbu y) sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$ serta nilai koefisien determinasi (R^2). Linearitas yang baik apabila memiliki nilai R^2 lebih dari 0,990 atau r lebih dari 0,995.

b) Presisi Respon Instrumen

Pengujian dilakukan dengan menginjektikan larutan baku campuran dengan konsentrasi 0,05 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10,0 ng/mL untuk Sn sebanyak minimum 6 kali ulangan. Rasio intensitas analit dengan standar internal dari masing-masing ulangan ditentukan nilai RSD nya. Presisi dinyatakan baik jika nilai RSD nya kurang dari 2,0% (JECFA 2006).

c) Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi Instrumen (iLOD dan iLOQ)

Pengujian dilakukan dengan menginjektikan larutan standar dengan konsentrasi kecil (0,05 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10 ng/mL untuk Sn) sebanyak 10 kali ulangan. Kesepuluh ulangan tersebut dihitung kadarnya dengan menggunakan kurva kalibrasi, kemudian dihitung nilai standar deviasinya (SD). Nilai iLOD dihitung dengan mengalikan nilai SD dengan tiga (3xSD) sedangkan nilai iLOQ ditentukan dengan mengalikan SD dengan sepuluh (10xSD).

Tabel 5 Seri larutan baku kerja

| Baku | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|-------------------------------------------------------|----|------|-----|------|-----|-----|-----|------|
| Pemipetan Larutan Baku Antara III Pb, Cd, Hg, As (µL) | 0 | 10 | 20 | 50 | 100 | 200 | 500 | 1000 |
| Pemipetan Larutan Baku Antara I Sn (µL) | 0 | 10 | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 |
| Penambahan Reagen | * | * | * | * | * | * | * | * |
| Volume Akhir (mL) | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Pb (ng/mL) | 0 | 0,05 | 0,1 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 |
| Cd (ng/mL) | 0 | 0,05 | 0,1 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 |
| Hg (ng/mL) | 0 | 0,05 | 0,1 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 |
| As (ng/mL) | 0 | 0,05 | 0,1 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 |
| Sn (ng/mL) | 0 | 10 | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 |

*Ditambahkan 5 mL HNO₃ 65% *suprapur*; 1,0 mL HCl; 1,0 mL asam asetat glasial dan 0,25 mL standar internal Bi, Ge dan Rh dengan konsentrasi 0,5 µg/mL, diencerkan menggunakan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ hingga 50 mL.

3.3.2 Tahap 2 : Penentuan Metode Analisis Melalui Uji Orientasi Metode

Orientasi metode dilakukan dengan menganalisis *unspiked* dan *spiked sample* dimulai dari persiapan sampel hingga analisis dengan menggunakan instrumen ICP-MS dan mengacu pada AOAC *Official Method* 2015.01 yang dimodifikasi pada tahap persiapan sampel dengan penambahan HCl. Terdapat dua kegiatan dalam tahap ini yaitu : pengembangan metode destruksi dengan *microwave* dan penentuan *ion identifier*.

a) Pengembangan Metode Destruksi dengan *Microwave*

Pada tahap ini dilakukan preparasi *unspiked* dan *spiked sample* dengan proses destruksi menggunakan tiga kondisi *microwave* mengacu pada AOAC *Official Method* 2015.01 dan pengalaman di laboratorium PPPOMN, BPOM. Kondisi terbaik dengan nilai perolehan kembali yang memenuhi syarat akan digunakan dalam proses validasi metode. Adapun tahapan preparasi *unspiked* dan *spiked sample* serta kondisi *microwave* sebagai berikut :

1) Persiapan *Unspiked Sample*

Ditimbang saksama sejumlah lebih kurang 0,5 g sampel yang telah homogen, dimasukkan ke dalam *vessel*. Ditambahkan 5,0 mL HNO₃ 65% *suprapur*; 1,0 mL HCl dan 1,0 mL H₂O₂. *Vessel* ditutup rapat dan didiamkan selama 10 menit. *Vessel* berisi sampel dan blangko masing-masing dimasukkan ke dalam *oven microwave* dan dikerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian pada Tabel 6. Setelah dingin, tutup *vessel* dibuka pelan-pelan, hindari terbuangnya cairan atau uap dari dalam *vessel*. Dipindahkan larutan

hasil destruksi ke dalam tabung sentrifugal 50 mL, ditambahkan 1,0 mL asam asetat glasial, 0,25 mL standar internal Bi, Ge dan Rh dengan konsentrasi 0,5 µg/mL dan ditepatkan hingga volume 50 mL dengan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ.

2) Persiapan *Spiked Sample*

Spiked sample dibuat dengan menambahkan 50 µL larutan standar campuran Pb, Cd, Hg, dan As dengan konsentrasi 0,1 µg/mL, dan 250 µL larutan standar Sn dengan konsentrasi 20 µg/mL pada sampel yang telah ditimbang sejumlah lebih kurang 0,5 g, didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diproses seperti *unspiked sample*.

Larutan *unspiked* dan *spiked sample* diinjekkan ke dalam instrumen ICP-MS Thermo Scientific iCAP RQ dengan kondisi seperti tertera pada Tabel 7.

Tabel 6 Kondisi *microwave* untuk destruksi sampel

| Kondisi | Stage | Max. Power (W) | Power (%) | Ramp (min) | Temp (°C) | Hold (min) | Acuan |
|-----------|-------|----------------|-----------|------------|-----------|------------|--------------------------------------------|
| Kondisi 1 | (1) | 800 | 100 | 10:00 | 180 | 10:00 | AOAC <i>Official Method</i> 2015.01 |
| | (2) | 800 | 100 | 10:00 | 200 | 20:00 | |
| Kondisi 2 | (1) | 800 | 100 | 10:00 | 180 | 10:00 | Pengalaman di laboratorium I PPPOMN, BPOM |
| | (2) | 800 | 100 | 10:00 | 200 | 25:00 | |
| Kondisi 3 | (1) | 1600 | 60 | 15 | 150 | 5 | Pengalaman di laboratorium II PPPOMN, BPOM |
| | (2) | 1600 | 60 | 5 | 180 | 5 | |
| | (3) | 1600 | 60 | 5 | 200 | 25 | |

Tabel 7 Kondisi instrumen ICP-MS

| Parameter | Value |
|----------------------------------------|----------------------------------------------|
| <i>Peristaltic Pump Speed</i> | 40 rpm |
| <i>RF Power</i> | 1550 W |
| <i>Cool Gas Flow</i> | 14 L/min |
| <i>Auxalary Gas Flow</i> | 0,8 L/min |
| <i>Nebulizer Gas Flow</i> | 0,97 L/min |
| <i>Analysis mode</i> | KED (<i>Kinetic Energy Discrimination</i>) |
| <i>Number of Sweeps</i> | 20 |
| <i>Dwell Time</i> | 0,001-0,02 ms |
| <i>Data Points per Isotope</i> | 1 |
| <i>Replicate per Analysis</i> | 3 |
| <i>Signal Stabilization Time</i> | 15 s |
| <i>Fast Sample Loop</i> | 0,5 mL |
| <i>Fast Uptake Time</i> | 3 s |
| <i>Fast Rinse Time (Dual Stations)</i> | 1+3 s |

b) Penentuan *Ion Identifier* menggunakan Sampel *Spike*

Pada tahap ini dilakukan *spiking* terhadap sampel dengan konsentrasi 20 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10 µg/g untuk Sn, selanjutnya dipreparasi dan diinjeksikan ke dalam sistem ICP-MS. Untuk menentukan *ion identifier*, dilakukan *screening* terhadap seluruh isotop dari unsur Pb, Cd, Hg, As dan Sn. Isotop dengan kelimpahan tertentu dengan nilai perolehan kembali yang memenuhi persyaratan akan dipilih untuk proses kuantisasi. Rekomendasi isotop untuk analisis logam berat beserta kemungkinan gangguan/*interference* disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8 Rekomendasi isotop untuk analisis logam berat dan Sn serta *interference*

| Elemen | Isotop | <i>Interference</i> |
|--------|---------------|--------------------------------------------------------|
| Pb | 206, 207, 208 | OsO ⁺ |
| Cd | 111 | MoO ⁺ |
| | 114 | MoO ⁺ , Sn ⁺ |
| Hg | 200 | WO ⁺ |
| | 202 | WO ⁺ |
| As | 75 | ArCl |
| Sn | 120 | Te ⁺ , RuO ⁺ , PdO ⁺ |
| | 118 | MoO ⁺ , RuO ⁺ , PdO ⁺ |

Sumber : Machado *et al.* 2017; Briscoe *et al.* 2015

Pada tahap ini juga dilakukan uji homogenitas sampel. Sampel dengan *batch* sama dihomogenkan dan ditempatkan dalam wadah kecil (10 wadah). Sampel kemudian dianalisis kadar airnya, masing-masing duplo. Analisis kadar air mengacu pada SNI-2970-2015, sedangkan uji homogenitas mengacu pada Sunanti *et al.* (2013).

3.3.3 Tahap 3 : Validasi Metode Analisis

Metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg As dan Sn dalam susu formula bayi secara ICP-MS dengan kondisi *microwave* dan *ion identifier* terpilih selanjutnya divalidasi. Parameter yang akan dievaluasi meliputi *Limit of Detection* dan *Limit of Quantification (LOQ)*; linearitas metode; presisi dan akurasi menggunakan CRM (*Certified Reference Material*); presisi dan akurasi dengan uji *recovery*; reproduibilitas intra laboratorium; dan *robustness*. Validasi metode dilakukan sesuai acuan yang terdapat pada guideline EURACHEM (Magnusson dan Ornemark 2014).

a) *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantification (LOQ)*

Nilai LOD dan LOQ ditentukan dengan cara seperti yang tertera pada Tabel 9. Pada penelitian ini digunakan pendekatan 1 yaitu dengan cara menginjeksikan larutan sampel dengan konsentrasi rendah dan dihitung nilai SD nya.

b) Linearitas Metode

Linearitas metode dilakukan dengan menggunakan sampel yang di *spike* secara bertingkat dengan 6 konsentrasi yang berbeda yaitu 5; 10; 15; 20; 25; 30 ng/g untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan 5; 10; 15; 20; 25; 30 µg/g untuk analit Sn. Konsentrasi tersebut diperoleh dengan menambahkan larutan baku campuran Pb, Cd, Hg, As konsentrasi 50 ng/mL dan larutan baku Sn konsentrasi 50 µg/mL sebesar 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,30 mL. Didiamkan selama 30 menit,

Tabel 9 Cara penentuan nilai LOD dan LOQ

| No. | Kegiatan | Ulangan | Parameter yang dievaluasi | Keterangan |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Replikasi pengukuran <i>blank sample</i> (matriks sampel yang tidak mengandung analit) atau replikasi pengukuran sampel dengan konsentrasi analit yang rendah | 10 | SD, selanjutnya LOD dan LOQ dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut : | |
| 2 | Replikasi pengukuran blanko reagen. atau replikasi pengukuran blanko pereaksi yang <i>dispike</i> dengan konsentrasi rendah. | 10 | $LOD = \frac{3SD}{\sqrt{n}}$ $LOQ = \frac{10SD}{\sqrt{n}}$ | Pendekatan 2) dapat diterima, jika tidak memungkinkan untuk mendapatkan <i>blank sample</i> atau sampel uji dengan konsentrasi yang rendah. |

Sumber : Magnusson dan Ornemark 2014

dipreparasi dan diinjekkan ke dalam instrumen ICP-MS. Respon yang diperoleh berupa intensitas analit (*Count Per Second*) dan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi analit (sumbu x) dan rasio intensitas analit dengan standar internal (sumbu y) sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$ serta nilai koefisien determinasi (R^2). Linearitas dianggap baik apabila memiliki nilai R^2 lebih dari 0,990 atau r lebih dari 0,995.

c) Presisi dan Akurasi dengan *Certified Reference Material* (CRM)

Uji ini dilakukan dengan melakukan analisis terhadap CRM minimal 6 kali ulangan. Uji presisi ditentukan dengan menghitung nilai RSD hasil analisis CRM yang selanjutnya dibandingkan dengan nilai 2/3 RSD Horwitz. Presisi memenuhi syarat apabila memiliki nilai $RSD < 2/3$ RSD Horwitz. Nilai RSD hasil analisis dan RSD Horwitz dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \% \quad (1)$$

$$RSD \text{ Horwitz} = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (2)$$

Keterangan :

C dan \bar{X} : konsentrasi rata-rata analit dalam sampel

RSD : standar deviasi relatif

SD : standar deviasi

Pada uji akurasi, syarat keberterimaan ditentukan dengan hasil analisis dari semua ulangan harus berada dalam rentang konsentrasi yang terdapat dalam *certificate of analysis* dan nilai perolehan kembalinya (*recovery*) harus berada pada rentang keberterimaan berdasarkan AOAC (2016) (Tabel 11).

d) Presisi dan Akurasi dengan Uji *Recovery*

Uji ini dilakukan dengan melakukan *spike* (penambahan larutan standar ke dalam sampel yang akan dianalisis) dengan satu tingkat konsentrasi yang masih berada diantara rentang linearitas dan dilakukan minimal 6 kali ulangan. *Spiking* dilakukan pada awal preparasi sampel sebelum tahap *microwave digestion*. Uji Presisi ditentukan dengan menghitung nilai RSD hasil analisis masing-masing sampel yang di-*spike* untuk selanjutnya dibandingkan dengan nilai 2/3 RSD Horwitz. Presisi dinyatakan memenuhi syarat apabila memiliki nilai RSD analisis < 2/3 RSD Horwitz.

Uji akurasi ditentukan dengan menghitung nilai perolehan kembali (*recovery*). Nilai % *recovery* dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ rekovert} = \frac{C3-C2}{C1} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan :

C3 = kadar analit dalam sampel setelah di-*spike* analit standar

C2 = kadar analit dalam sampel sebelum di-*spike* analit standar

C1 = kadar analit yang di-*spike* (*target value*)/konsentrasi *spiking*

Syarat keberterimaan % *recovery* mengacu pada AOAC (2016) yang dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10 Keberterimaan *recovery*

| Konsentrasi | Keberterimaan <i>recovery</i> (%) |
|-------------|-----------------------------------|
| 100% | 98-102 |
| 10% | 98-102 |
| 1% | 97-103 |
| 0,1% | 95-105 |
| 100 mg/kg | 90-107 |
| 10 mg/kg | 80-110 |
| 1 mg/kg | 80-110 |
| 100 µg/kg | 80-110 |
| 10 µg/kg | 60-115 |
| 1 µg/kg | 40-120 |

Sumber : AOAC 2016

e) Uji Reprodusibilitas Intra Laboratorium

Reprodusibilitas intra laboratorium ditentukan dengan cara mengukur konsentrasi logam Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada sampel susu formula bayi yang dilakukan pada tiga minggu yang berbeda dengan analisis, laboratorium dan instrumen yang sama. Masing-masing pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Parameter yang dievaluasi adalah rata-rata kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn seluruh pengujian untuk selanjutnya dihitung standar deviasi dan nilai RSD antar minggu. Nilai RSD analisis dibandingkan dengan nilai RSD Horwitz. Reprodusibilitas intra laboratorium dinyatakan baik apabila memiliki nilai RSD analisis lebih kecil dari nilai RSD Horwitz. Hasil uji pada minggu yang berbeda juga dievaluasi dengan uji statistik (*One-Way ANOVA*).

f) *Robustness*

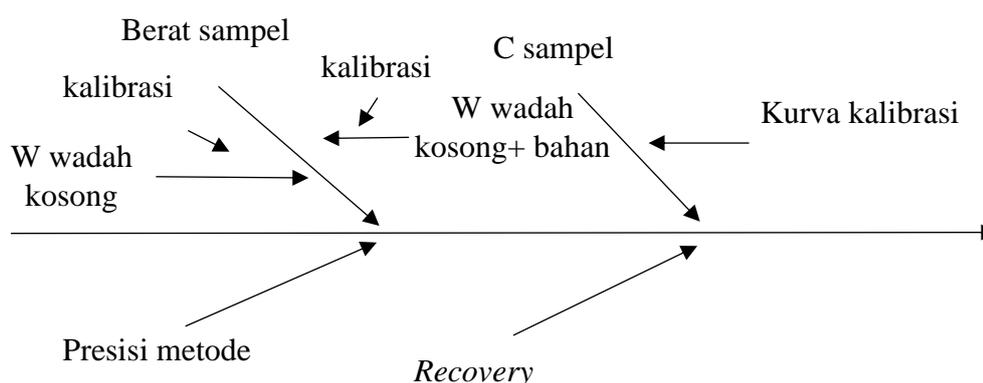
Uji ini dilakukan dengan mengidentifikasi variabel yang memiliki pengaruh signifikan terhadap kinerja metode. Selanjutnya dibuat desain percobaan dengan melakukan sedikit perubahan terhadap variabel tersebut. Hasil pengukuran dipantau untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perubahan variabel. Jika hasil analisis tidak berbeda nyata antara yang menggunakan metode hasil validasi dan metode dengan sedikit perubahan, metode analisis tersebut andal dan memiliki ketahanan terhadap perubahan kecil pada variabelnya. Pada penelitian ini variabel yang diubah adalah volume HNO₃ 65% *suprapur* untuk destruksi sampel. Pada metode baku AOAC 2015.01 digunakan volume 5 mL HNO₃ 65% *suprapur*, sedangkan uji *robustness* diubah menjadi 4,5 mL. Hasil analisis keduanya dibandingkan dengan uji beda nyata menggunakan uji t.

3.3.4 Tahap 4 : Menghitung Estimasi Ketidakpastian Pengukuran (*Uncertainty*)

Pada penelitian ini pendekatan yang digunakan untuk estimasi ketidakpastian pengukuran adalah *bottom up* dan *top down*. Langkah-langkah yang dilakukan dalam menentukan nilai *uncertainty* adalah membuat model sistem pengujian untuk memperoleh informasi awal dalam menentukan sumber-sumber ketidakpastian atau faktor-faktor yang diduga mempengaruhi hasil analisis. Masing-masing sumber ketidakpastian dihitung sesuai dengan rumusnya dan selanjutnya digabungkan untuk memperoleh nilai ketidakpastian gabungan. Perhitungan ketidakpastian pengukuran mengacu pada mengacu pada EURACHEM (2012); Magnusson *et al.* (2017); SAC (2008); SAC (2019).

a) Pendekatan *Bottom up*

Pada pendekatan *bottom up*, ketidakpastian pengukuran dihitung dari sumber-sumber yang memberikan kontribusi pada ketidakpastian. Sumber-sumber tersebut dalam metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS diantaranya berasal dari penimbangan bobot sampel, C sampel, presisi metode, dan *recovery*. Sumber-sumber ketidakpastian dituangkan dalam diagram tulang ikan (Gambar 3).



Gambar 3 Sumber-sumber ketidakpastian pengukuran

Masing-masing sumber ketidakpastian kemudian dikuantifikasi menggunakan rumus sebagai berikut :

1) Ketidakpastian Baku Asal Berat Sampel (Uberat sampel)

Data yang diperlukan adalah data ketidakpastian dari sertifikat kalibrasi neraca analitik dan nilai k. Rumus perhitungannya sebagai berikut :

$$U \text{ kalibrasi} = \frac{U \text{ sertifikat}}{k} \tag{4}$$

U kalibrasi dihitung dua kali karena terdapat penyumbang ketidakpastian dari wadah kosong dan wadah kosong+sampel, sehingga ketidakpastian baku gabungan dari berat sampel yang ditimbang adalah :

$$U \text{ berat sampel} = \sqrt{2 \times U \text{ kalibrasi}} \tag{5}$$

2) Ketidakpastian Baku Asal Csampel (U Csampel)

Ketidakpastian konsentrasi (Sx) pada persamaan garis dengan *intercept* (y = bx+a) dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$S_x = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y \text{ sampel} - y \text{ rata-rata})^2}{b^2 \sum (x_i - x \text{ rata-rata})^2}} \tag{6}$$

Sy/x merupakan standar deviasi residual dan diperoleh dari rumus :

$$S_{y/x} = \sqrt{\sum (y_i - y_c)^2 / (n - 2)} \tag{7}$$

Keterangan :

yi : respon dari alat

yc : respon yang diperoleh dari perhitungan menggunakan persamaan kurva kalibrasi

3) Ketidakpastian Baku Asal Presisi Metode

$$U \text{ presisi metode} = \frac{SD}{\sqrt{n}}, n : \text{jumlah pengulangan} \tag{8}$$

4) Ketidakpastian Baku Asal *Recovery*

Jika terdapat data *recovery* pada sampel lain yang sejenis, perhitungan *U recovery* berdasarkan SAC (2019) adalah :

$$U_{rec} = \text{rata-rata } recovery \text{ sampel untuk validasi} \times RSD \text{ } recovery \text{ sampel sejenis} \tag{9}$$

Atau, jika tidak terdapat data *recovery* pada sampel lain yang sejenis, perhitungan *U recovery* sebagai berikut :

$$U_{rec} = \frac{SD \text{ } rekoverti}{\sqrt{n}}, n : \text{jumlah pengulangan} \tag{10}$$

Langkah selanjutnya adalah menggabungkan komponen-komponen ketidakpastian baku untuk menghasilkan ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas.

$$U \text{ Gab} = \sqrt{(U_{w \text{ spl}})^2 + (U \text{ Csampel})^2 + (U \text{ presisi})^2 + (U \text{ rec})^2} \tag{11}$$

$$U \text{ diperluas} = U \text{ Gab} \times k, \quad k = 2 \text{ pada tingkat kepercayaan } 95\% \quad (12)$$

b) Pendekatan *Top Down*

Pada pendekatan *top down*, data yang diperlukan adalah ketidakpastian baku asal reproduktibilitas (U_R) dan ketidakpastian baku asal bias (U_{bias}). Ketidakpastian baku asal reproduktibilitas dapat diperoleh dari data kontrol sampel yang dianalisis dalam waktu yang berbeda atau data analisis sampel secara duplo yang selama ini telah diuji di laboratorium. Ketidakpastian baku asal bias diperoleh dari selisih antara nilai rata-rata CRM hasil analisis di laboratorium dan nilai benar CRM yang tertera pada sertifikat.

1) Ketidakpastian baku asal reproduktibilitas (U_R)

Ketidakpastian baku asal reproduktibilitas pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan data hasil uji reproduktibilitas intralab. Rumus yang digunakan yaitu :

$$U_R = SD/\text{nilai benar (spike)} \times 100\% \quad (13)$$

2) Ketidakpastian baku asal bias (U_{bias})

Ketidakpastian baku asal bias pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan 1 CRM. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$U_{bias} = \sqrt{bias^2 + (S \text{ bias}/\sqrt{n})^2 + U_c(\text{ref})^2} \quad (14)$$

Jika antara hasil analisis CRM di laboratorium dan nilai benar CRM dalam sertifikat tidak berbeda signifikan berdasarkan uji t, bias tidak diperhitungkan dalam rumus U_{bias} , sehingga perhitungan U_{bias} menggunakan rumus sebagai berikut :

$$U_{bias} = \sqrt{(S \text{ bias}/\sqrt{n})^2 + U_c(\text{ref})^2} \quad (15)$$

Keterangan :

S_{bias} : standar deviasi relatif dari bias dalam

n : jumlah pengulangan dari analisis CR

$U_c(\text{ref})$: ketidakpastian diperluas yang tercantum dalam sertifikat

Langkah selanjutnya adalah menggabungkan U_R dan U_{bias} untuk menghitung ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas.

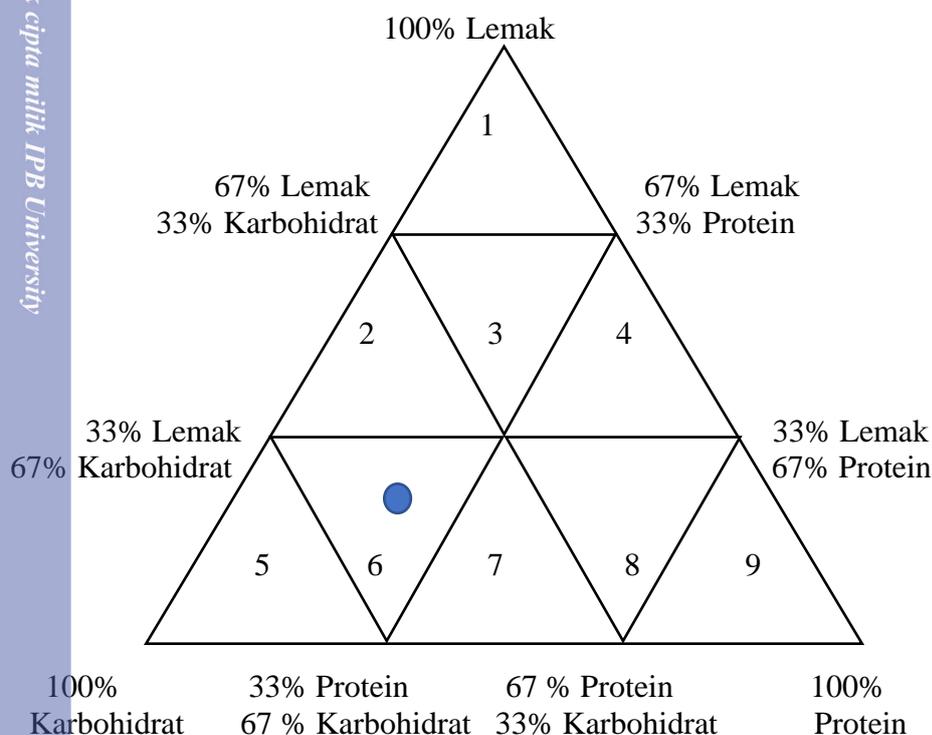
$$U \text{ Gab} = \sqrt{U_R^2 + U_{bias}^2} \quad (16)$$

$$U \text{ diperluas} = U \text{ Gab} \times k, \quad k = 2 \text{ pada tingkat kepercayaan } 95\% \quad (17)$$

3.3.5 Tahap 5 : Aplikasi Metode Analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada produk lain yang memiliki matriks sama

Metode analisis yang telah divalidasi selanjutnya digunakan untuk analisis kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada produk lain yang memiliki matriks sama. Produk yang memiliki matriks sama berdasarkan segitiga matriks pangan yang

ada di AOAC 2016 diantaranya adalah susu formula lanjutan untuk usia 6-12 bulan dan susu formula pertumbuhan untuk usia 12-36 bulan. Semua sampel tersebut pada segitiga matriks pangan (Gambar 4) terletak di segitiga keenam. Kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn yang diperoleh dari hasil analisis kemudian dibandingkan terhadap peraturan yang berlaku yaitu Perka BPOM Nomor 5 Tahun 2018.



Keterangan: ● = Matriks susu formula bayi
Gambar 4 Segitiga matriks pangan (AOAC 2016)

3.4 Prosedur Analisis

3.4.1 Penetapan Simultan Kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam Susu Formula Bayi dengan ICP-MS

a) Preparasi Sampel

Ditimbang saksama sejumlah lebih kurang 0,5 g sampel yang telah homogen, dimasukkan ke dalam *vessel*. Ditambahkan 5,0 mL HNO₃ 65% *suprapur*, 1,0 mL HCl dan 1,0 mL H₂O₂. *Vessel* ditutup rapat dan didiamkan selama 10 menit. *Vessel* berisi sampel dan blangko masing-masing dimasukkan ke dalam *microwave* dan dikerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian pada Tabel 11. Setelah dingin, dibuka tutup *vessel* pelan-pelan, hindari terbuangnya cairan atau uap dari dalam *vessel*. Dipindahkan larutan hasil destruksi ke dalam tabung sentrifugal 50 mL, ditambahkan 1,0 mL asam asetat glasial, 0,25 mL standar internal campuran Bi, Ge dan Rh dengan konsentrasi 0,5 µg/mL dan ditepatkan hingga volume 50 mL dengan aquademineral yang diperoleh dari alat *Milli-Q Ultrapure Water System Merck* dengan tahanan 18,2 MΩ. Selanjutnya

diinjekkan ke dalam ICP-MS dengan kondisi dan *ion identifier* yang terpilih sesuai dengan hasil orientasi.

Tabel 11 Kondisi *microwave*

| <i>Stage</i> | <i>Max power (W)</i> | <i>Power (%)</i> | <i>Ramp (min)</i> | <i>Temp (°C)</i> | <i>Hold (min)</i> |
|--------------|----------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| 1 | 1600 | 60 | 15 | 150 | 5 |
| 2 | 1600 | 60 | 5 | 180 | 5 |
| 3 | 1600 | 60 | 5 | 200 | 25 |

b) Penentuan Kadar Logam berat dan Sn dengan ICP-MS

Larutan sampel dan blanko secara terpisah diukur intensitasnya menggunakan alat Thermo Scientific iCAP RQ ICP-MS dengan m/z, mode serta penggunaan standar internal seperti yang tertera pada Tabel 12.

Tabel 12 Standar internal yang digunakan untuk proses kuantifikasi

| No | Nama Unsur | m/z | Mode | Standar Internal |
|----|------------|-----|------|-------------------|
| 1 | Pb | 208 | KED | ²⁰⁹ Bi |
| 2 | Cd | 111 | KED | ¹⁰³ Rh |
| 3 | Hg | 202 | KED | ²⁰⁹ Bi |
| 4 | As | 75 | KED | ⁷³ Ge |
| 5 | Sn | 119 | KED | ¹⁰³ Rh |

Kadar logam berat dan Sn dalam sampel dihitung dengan menggunakan kurva kalibrasi yang merupakan hubungan antara konsentrasi logam berat dan Sn dari standar (sumbu x) dan rasio intensitas analit dengan standar internal (sumbu y). Selanjutnya kadar logam berat dan Sn dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar ng/g sampel} = \frac{[\text{dari kurva kalibrasi (ng/mL)}] \times \text{volume (mL)} \times F_p}{\text{berat sampel (g)}} \quad (18)$$

Keterangan :

[] = Konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi (ng/mL)

Fp = Faktor pengenceran

3.4.2 Penetapan Kadar Air (SNI-2970-2015)

Kadar air sampel dianalisis dengan menggunakan metode gravimetri sesuai dengan SNI-2970-2015. Botol timbang beserta tutupnya dipanaskan dalam oven pada suhu (102±2) °C selama kurang lebih 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 45 menit kemudian ditimbang dengan neraca analitik (botol timbang dan tutupnya) (W₀). Ditimbang 1-3 g contoh ke dalam botol timbang, kemudian ditutup dan ditimbang (W₁). Panaskan botol timbang yang berisi contoh tersebut dalam keadaan terbuka dengan meletakkan tutup botol didekatnya didalam oven pada suhu (102±2) °C selama kurang lebih 2 jam (dua jam setelah suhu oven mencapai 102 °C). Tutup botol timbang selama masih di dalam oven dan dipindahkan segera ke dalam desikator dan didinginkan selama

45 menit kemudian ditimbang seterusnya sampai diperoleh bobot yang konstan ($\leq 0,0005$ g) (W_2). Lakukan pengujian secara duplo dan kadar air (dalam g/100 g bahan) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kadar air (basis basah)} : \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\% \quad (19)$$

$$\% \text{ kadar air (basis kering)} : \frac{W - (W_2 - W_0)}{(W_2 - W_0)} \times 100\% \quad (20)$$

Keterangan :

W_0 : bobot botol timbang kosong dan tutupnya, dinyatakan dalam (g),

W_1 : bobot botol timbang, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan, dinyatakan dalam (g)

W_2 : bobot botol timbang, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan, dinyatakan dalam (g)

W : bobot sampel, dinyatakan dalam (g)

3.5 Analisis Data

Perhitungan kadar logam berat dan Sn dalam sampel susu formula bayi dan statistika deskriptif lainnya, estimasi ketidakpastian pengukuran, serta uji t untuk parameter *robustness* dilakukan dengan menggunakan *Microsoft Excel 2016 Profesional Plus*. Reprodusibilitas intra laboratorium dianalisis dengan *One-Way ANOVA* menggunakan *SPSS* versi 23 dan untuk mengetahui signifikansi statistik digunakan nilai probabilitas 0,05.

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Unjuk Kerja Instrumen ICP-MS untuk Analisis Logam berat dan Sn

Pada tahap ini dilakukan dengan menginjektikan larutan standar tanpa matriks sampel. Adapun parameter yang diukur diantaranya adalah : linearitas instrumen, LOD dan LOQ instrumen dan presisi respon analisis. Linearitas instrumen ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi pada rentang konsentrasi 0-5 ng/mL untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan rentang konsentrasi 0-300 ng/mL untuk analit Sn. Kurva kalibrasi dibuat berdasarkan hubungan antara konsentrasi analit (ng/mL) pada sumbu x dan respon analisis berupa nilai intensitas (CPS) pada sumbu y, sehingga diperoleh persamaan linear dengan *slope* dan *intercept* serta koefisien korelasi seperti yang tertera pada Tabel 13.

Berdasarkan Tabel 13, instrumen ICP-MS mempunyai linearitas yang baik, ditunjukkan dengan nilai koefisien determinasi yang melebihi 0,990 (AOAC 2013). Instrumen ICP-MS mampu memberikan respon analisis berupa nilai intensitas yang proporsional dengan peningkatan konsentrasi analit. Semakin tinggi konsentrasi analit, semakin tinggi pula nilai intensitasnya.

Tabel 13 Linearitas instrumen untuk analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn (n=3)

| Parameter | Analit | | | | |
|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | ^{208}Pb | ^{111}Cd | ^{202}Hg | ^{75}As | ^{119}Sn |
| Linearitas instrumen | | | | | |
| <i>Slope</i> | 0,1546 | 0,0120 | 0,0169 | 0,6237 | 0,0104 |
| <i>Intercept</i> | 0,0317 | 0,0002 | 0,0009 | 0,0016 | -0,0015 |
| R^2 | 0,9999 | 0,9997 | 0,9997 | 0,9998 | 0,9997 |

Parameter uji unjuk kerja instrumen lainnya adalah limit deteksi dan limit kuantifikasi instrumen. Limit deteksi instrumen didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil dari suatu analit yang masih dapat dideteksi oleh instrumen, sedangkan limit kuantifikasi merupakan konsentrasi analit terkecil yang dapat dikuantifikasi dengan presisi dan akurasi yang memenuhi syarat (Magnusson dan Ornemark 2014). Pada tahap ini dilakukan injeksi larutan standar dengan konsentrasi 0,05 ng/mL untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan konsentrasi 10 ng/mL untuk analit Sn masing-masing sebanyak 10 kali ulangan. Hasil injeksi larutan standar tersebut kemudian dihitung konsentrasinya dengan menggunakan kurva kalibrasi dan dihitung nilai standar deviasinya.

Nilai perkiraan LOD dihitung menggunakan rumus 3 SD, sedangkan nilai perkiraan LOQ dihitung dengan menggunakan rumus 10 SD. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai perkiraan LOD untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn berturut turut sebesar : 0,014; 0,015; 0,011; 0,012 dan 0,673 ng/mL, sedangkan nilai perkiraan LOQ nya berturut-turut sebesar : 0,046; 0,048; 0,037; 0,038 dan 2,243 ng/mL. Nilai tersebut selanjutnya dibuktikan dengan menginjektikan larutan standar dengan konsentrasi 0,01 ng/mL untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan 0,1 ng/mL untuk analit Sn dan hasilnya menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,01 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan dan 0,1 ng/mL untuk Sn memiliki nilai presisi dan akurasi yang masih memenuhi persyaratan (RSD analisis $< \frac{2}{3}$ RSD Horwitz, *recovery* 60-115%), namun pada konsentrasi dibawah 0,01 ng/mL nilai intensitasnya lebih rendah dibandingkan blanko. Berdasarkan hal tersebut maka nilai 0,01 ng/mL dan

0,1 ng/mL dapat dianggap sebagai nilai LOD instrumen (Tabel 14). Hal yang sama pada pembuktian nilai LOQ yang memiliki presisi dan *recovery* yang memenuhi persyaratan yaitu nilai RSD analisis $< \frac{2}{3}$ RSD Horwitz dan *recovery* 40-120%. Dengan demikian maka nilai 0,03 ng/mL dianggap sebagai nilai LOQ instrumen untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan nilai 0,3 ng/mL untuk analit Sn.

Parameter uji unjuk kerja ICP-MS berikutnya adalah presisi respon analisis yang dalam hal ini adalah rasio intensitas analit dengan standar internalnya. Berdasarkan JECFA (2006), syarat keberterimaan presisi jika mempunyai nilai RSD $< 2\%$. Pada penelitian ini dilakukan injeksi larutan standar pada konsentrasi LOQ yaitu 0,03 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 0,3 ng/mL untuk Sn. Selanjutnya dihitung nilai RSD dari rasio intensitas analit dengan standar internalnya. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai RSD untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn masing-masing : 0,19; 1,23; 1,59; 1,87; dan 1,37%. Nilai tersebut masih dibawah 2% untuk semua analit yang dianalisis, sehingga dapat dinyatakan presisinya memenuhi persyaratan.

Tabel 14 Pembuktian nilai LOD dan LOQ analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn

| Parameter | Analit | Konsentrasi standar (ng/mL) | Konsentrasi yang terbaca (ng/mL) | RSD (%) | $\frac{2}{3}$ RSD Horwitz (%) | Recovery (%) | Keberterimaan recovery (%) ^a |
|-----------|--------|-----------------------------|----------------------------------|---------|-------------------------------|--------------|-----------------------------------------|
| LOD | Pb | 0,01 | 0,012±0,004 | 30,11 | 59,09 | 114,88 | 40-120 |
| | Cd | 0,01 | 0,009±0,002 | 23,40 | 61,74 | 85,82 | 40-120 |
| | Hg | 0,01 | 0,009±0,002 | 24,36 | 61,34 | 89,69 | 40-120 |
| | As | 0,01 | 0,008±0,002 | 22,03 | 61,94 | 84,08 | 40-120 |
| | Sn | 0,1 | 0,077±0,020 | 25,54 | 44,37 | 77,13 | 40-120 |
| LOQ | Pb | 0,03 | 0,033±0,001 | 3,86 | 50,48 | 109,04 | 40-120 |
| | Cd | 0,03 | 0,031±0,002 | 5,81 | 51,02 | 101,65 | 40-120 |
| | Hg | 0,03 | 0,030±0,003 | 9,19 | 51,27 | 98,34 | 40-120 |
| | As | 0,03 | 0,033±0,002 | 6,97 | 50,46 | 109,31 | 40-120 |
| | Sn | 0,3 | 0,268±0,044 | 16,34 | 36,79 | 89,27 | 40-120 |

Sumber: ^aAOAC (2016)

4.2 Homogenitas Sampel

Sampel susu formula bayi yang akan digunakan untuk proses validasi metode analisis, diuji homogenitasnya terlebih dahulu. Beberapa sampel susu formula bayi dengan *batch* yang sama dimasukkan ke dalam satu wadah plastik yang berukuran besar, selanjutnya dikocok hingga homogen. Sampel tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah kecil minimal 10 wadah. Sampel dalam 10 wadah tersebut dianalisis kadar airnya dengan masing-masing wadah dilakukan secara duplo. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai rata-rata kadar air dalam susu formula bayi sebesar $2,32 \pm 0,04\%$ dan hasil perhitungan untuk uji homogenitas diperoleh nilai MSW (*Mean Square Within*) dan MSB (*Mean Square Between*) masing-masing sebesar 0,0015 dan 0,0029. Nilai tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai F hitung dengan menggunakan rumus : $F \text{ hitung} = \frac{MSB}{MSW}$, sehingga diperoleh F hitung sebesar 1,96. Nilai F hitung ini selanjutnya dibandingkan dengan nilai F tabel (3,02). Berdasarkan hasil analisis diperoleh nilai F hitung yang lebih kecil dibandingkan F tabel sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel susu formula bayi yang digunakan dalam penelitian ini homogen.

4.3 Penentuan Metode Analisis melalui Uji Orientasi Metode

a. Pemilihan Metode Analisis dan Beberapa Hal yang harus Diperhatikan dalam Analisis Logam Berat dan Sn dengan ICP-MS

Metode analisis yang digunakan mengacu pada metode baku AOAC *Official Method* 2015.01 (Briscoe *et al.* 2015). Modifikasi metode dilakukan dengan menambahkan HCl pada proses destruksi sampel yang pada metode baku ditambahkan Au. HCl memiliki fungsi yang sama dengan Au yaitu untuk menstabilkan Hg. Beberapa hal tentang analisis Hg yang perlu diperhatikan diantaranya adalah : Hg memiliki energi ionisasi pertama yang sangat tinggi (10,44eV), hanya sekitar 4% yang terionisasi dalam plasma sehingga menyebabkan sensitivitasnya rendah. Hg juga memiliki jumlah isotop yang banyak yaitu 7 dan semuanya memiliki *abundance* dibawah 30% sehingga menyebabkan sensitivitasnya rendah untuk setiap isotopnya, dan Hg bersifat volatil yang dapat dengan mudah hilang pada saat membuka *vessel* setelah proses destruksi sampel dengan *microwave*. Hal ini menyebabkan nilai *recovery*nya cenderung lebih rendah (Agilent 2011). Pada penelitian ini digunakan penambahan bahan kimia HCl dalam konsentrasi yang rendah sehingga akan terbentuk HgCl_4^{2-} yang bersifat lebih stabil (Agilent 2011; Korn *et al.* 2008; Casey *et al.* 2018; Parikh *et al.* 2015).

Penambahan HCl juga harus diperhatikan untuk analisis logam yang lainnya karena dapat menyebabkan terjadinya gangguan poliatomik. Ion poliatomik terbentuk didalam plasma sebagai akibat dari proses atomisasi yang tidak sempurna. Ion-ion tersebut dapat berasal dari matriks sampel, reagen yang digunakan untuk preparasi sampel maupun berasal dari gas argon. Sebagai contoh adanya $^{35}\text{Cl}^-$ jika bergabung dengan $^{40}\text{Ar}^+$ akan terbentuk $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ yang memiliki m/z 75 dan menyebabkan *overlap* dengan isotop As yang juga memiliki m/z 75 (Wilschefski dan Baxter 2019). Mode KED di dalam sistem ICP-MS digunakan untuk meminimalkan adanya gangguan tersebut. Mode ini menggunakan helium sebagai *collision gas* yang akan mengeliminasi gangguan poliatomik sebelum masuk ke dalam *Mass analyzer* (Thomas 2013).

Adanya unsur lain seperti karbon di dalam larutan sampel yang berasal dari dekomposisi CO_2 pada saat destruksi sampel dengan *microwave* atau dari sisa senyawa organik yang tidak larut juga dapat menyebabkan masalah dalam analisis dengan ICP-MS yaitu menyebabkan respon analit menjadi lebih tinggi. Unsur yang paling terdampak adalah As karena As memiliki derajat ionisasi yang rendah. Dengan adanya karbon dapat meningkatkan efektifitas ionisasi As di dalam plasma dan jika tidak disertai dengan penambahan senyawa yang merupakan sumber karbon pada larutan standar, dapat menyebabkan kadar analit menjadi lebih besar dari yang seharusnya. Pada penelitian ini ditambahkan sumber karbon yaitu asam asetat. Penambahan asam asetat dilakukan setelah proses destruksi sampel dan ditambahkan baik pada larutan sampel, standar maupun blanko dengan jumlah yang sama. Penambahan asam asetat ini digunakan untuk meningkatkan sensitivitas As karena berdasarkan penelitian sebelumnya, penambahan asam asetat dapat meningkatkan intensitas As hingga 2,8 kali (Briscoe *et al.* 2015; Nishimura *et al.* 2010).

Pada analisis logam berat dan Sn dalam suatu sampel, matriks sampel sangat berpengaruh terhadap pembacaan respon analisis. Penggunaan standar internal merupakan cara yang efektif untuk mengoreksi respon dari sinyal yang

turun karena efek matriks dan *drift* instrumen (Evans dan Giglio 1993; Vanhaecke *et al.* 1992; Wilschefski dan Baxter 2019). Pemilihan standar internal yang tepat juga harus diperhatikan. Standar internal harus memiliki massa dan potensial ionisasi yang berdekatan dengan analit target sehingga perlakuan di dalam plasma akan sama; bersifat stabil; tidak bereaksi dengan matriks sampel maupun analit; serta tidak boleh ada di dalam sampel yang akan dianalisis (Evans dan Giglio, 1993; Martino *et al.* 2001; Martino *et al.* 2000; Nishimura *et al.* 2010; Thomas 2013; Wilschefski dan Baxter 2019). Penggunaan standar internal dengan nomor massa yang berdekatan dengan analit target juga dapat meningkatkan presisi (Vanhaecke *et al.* 1992).

Standar internal harus ditambahkan baik pada larutan sampel, standar maupun blanko dengan pada tingkat konsentrasi yang sama. Pada penelitian ini digunakan standar internal ^{209}Bi , ^{103}Rh , dan ^{73}Ge . Bismuth digunakan untuk mengoreksi analit Pb dan Hg, Rhodium untuk Cd dan Sn, sedangkan Germanium untuk As (Murugesan dan Oulkar 2019). Berdasarkan tabel periodik unsur kimia, Bismuth memiliki nomor massa 209 dan potensial ionisasi 7,29 eV, sehingga dapat digunakan untuk mengoreksi analit Pb dan Hg yang memiliki nomor massa 208 dan 202 serta potensial ionisasi 7,4 eV dan 10,44 eV, demikian halnya dengan Rhodium (nomor massa 103, potensial ionisasi 5,4 eV) yang digunakan untuk mengoreksi analit Cd yang mempunyai nomor massa 111 dan potensial ionisasi 8,99 eV serta Germanium (nomor massa 73, potensial ionisasi 7,9 eV) untuk As yang memiliki nomor massa 75 dan potensial ionisasi 9,8 eV. Analit Sn sebenarnya berdekatan dengan standar internal Indium yang memiliki nomor massa 115 dan potensial ionisasi 5,78 eV, namun analit Sn juga memiliki isotop dengan nomor massa yang sama dengan Indium sehingga untuk analit Sn digunakan standar internal Rhodium (nomor massa 103, potensial ionisasi 5,4 eV).

b. Pengembangan Metode Destruksi dengan *Microwave*

Proses destruksi dilakukan dengan teknik destruksi basah secara tertutup menggunakan *microwave*. Sampel didekomposisi dengan asam kuat seperti asam nitrat atau campuran asam nitrat dengan asam kuat lainnya. Proses destruksi dengan *microwave* sangat dipengaruhi oleh jenis matriks pangan. Pangan yang mengandung karbohidrat akan lebih mudah terdekomposisi dengan asam nitrat pada suhu 180 °C, sedangkan pangan yang mengandung lemak dan protein akan lebih mudah terdekomposisi pada suhu 200 °C menggunakan campuran asam nitrat dengan asam kuat lainnya serta oksidator. Hal ini disebabkan rendahnya potensial oksidasi dari asam nitrat (Korn *et al.* 2008; Kira *et al.* 2004). Pada penelitian ini asam kuat yang ditambahkan adalah HCl, sedangkan oksidatornya adalah H_2O_2 .

Pengembangan metode destruksi dengan *microwave* mengacu pada metode yang terdapat pada AOAC *Official Method* 2015.01 dan berdasarkan pengalaman di Laboratorium PPPOMN, BPOM. Terdapat 3 kondisi *microwave* yang nantinya akan dipilih untuk proses validasi metode analisis (Tabel 15). Kondisi *microwave* dengan nilai *recovery* yang memenuhi syarat akan dipilih untuk proses validasi metode analisis. Dalam menentukan nilai *recovery* diperlukan sampel yang *dispike* dengan larutan standar pada konsentrasi 20 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10 µg/g untuk Sn. Sampel *spike* selanjutnya didestruksi dengan kondisi *microwave* sesuai yang tertera pada Tabel 15. Nilai

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

recovery analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada 3 kondisi *microwave* disajikan pada Tabel 16.

Berdasarkan hasil penelitian, kondisi 3 dipilih untuk proses validasi metode analisis karena memiliki nilai *recovery* yang memenuhi syarat berdasarkan AOAC (2016) yaitu 60-115% untuk Pb, Cd, Hg, As dan 80-110% untuk Sn. Kondisi ini sangat tergantung pada masing-masing *brand microwave* dan kondisi *microwave* sendiri pada saat digunakan untuk proses destruksi.

Tabel 15 Kondisi *microwave* untuk destruksi sampel

| Kondisi | Stage | Max. Power (W) | Power (%) | Ramp (min) | Temp (°C) | Hold (min) | Acuan |
|-----------|-------|----------------|-----------|------------|-----------|------------|--------------------------------------------|
| Kondisi 1 | (1) | 800 | 100 | 10:00 | 180 | 10:00 | AOAC <i>Official Method</i> 2015.01 |
| | (2) | 800 | 100 | 10:00 | 200 | 20:00 | |
| Kondisi 2 | (1) | 800 | 100 | 10:00 | 180 | 10:00 | Pengalaman di Laboratorium PPPOMN, BPOM I |
| | (2) | 800 | 100 | 10:00 | 200 | 25:00 | |
| Kondisi 3 | (1) | 1600 | 60 | 15:00 | 150 | 5:00 | Pengalaman di laboratorium PPPOMN, BPOM II |
| | (2) | 1600 | 60 | 5:00 | 180 | 5:00 | |
| | (3) | 1600 | 60 | 5:00 | 200 | 25:00 | |

Tabel 16 Nilai *recovery* pada 3 kondisi *microwave*

| Kondisi Microwave | Recovery (%) | | | | | Acuan |
|-------------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------------------------------------------|
| | Pb | Cd | Hg | As | Sn | |
| Kondisi 1 | 85,74 | 125,80 | 110,87 | 110,68 | 102,52 | AOAC <i>Official Method</i> 2015.01 |
| Kondisi 2 | - | 106,37 | 80,80 | 109,31 | 106,55 | Pengalaman di Laboratorium PPPOMN, BPOM I |
| Kondisi 3 | 100,22 | 106,23 | 73,40 | 105,73 | 101,52 | Pengalaman di Laboratorium PPPOMN, BPOM II |

Keterangan : - tidak dapat dikuantisasi

c. Penentuan *Ion Identifier*

Pengembangan metode penetapan simultan Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi memerlukan pemilihan *ion identifier* atau isotop yang nantinya akan digunakan untuk proses kuantifikasi analit target dalam sampel. Jika analit target memiliki dua atau lebih isotop, setidaknya sebanyak dua isotop harus dimonitor. Isotop terpilih biasanya yang memiliki *abundance* atau kelimpahan di alam yang paling tinggi (Ataro *et al.* 2008). Pada penelitian ini dilakukan *screening* terhadap beberapa isotop dari analit yang akan dianalisis kecuali pada As yang memang hanya memiliki satu isotop. Isotop terpilih yang digunakan dalam penelitian ini adalah : $^{206,208}\text{Pb}$, $^{110,111}\text{Cd}$, $^{200,201,202}\text{Hg}$, ^{75}As , $^{118,119,120}\text{Sn}$. Isotop ^{114}Cd sebenarnya memiliki *abundance* yang besar yaitu 28,73%, namun *overlap* dengan ^{114}Sn dan hal ini dapat menyebabkan terjadinya gangguan isobarik.

Pada tahapan penentuan *ion identifier* ini diperlukan sampel yang di *spike* dengan larutan standar pada konsentrasi 20 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10 µg/g untuk Sn untuk selanjutnya dipreparasi dan diinjeksikan ke dalam instrumen ICP-MS. Isotop yang akan digunakan untuk proses validasi metode dipilih berdasarkan nilai *recovery* yang memenuhi syarat berdasarkan AOAC (2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isotop memiliki nilai *recovery* yang

memenuhi syarat kecuali ^{118}Sn yang nilai *recovery*-nya lebih dari 130%. Dengan hasil tersebut maka diperlukan pertimbangan lain yaitu dengan melihat nilai *abundance* atau kelimpahannya di alam. Nilai *abundance* berhubungan dengan sensitivitas, *abundance* yang rendah menghasilkan sensitivitas yang rendah pula seperti yang terlihat pada Gambar 5 (Wilschefski dan Baxter 2019). Dengan demikian isotop dengan nilai *abundance* yang tertinggi akan dipilih untuk proses validasi metode kecuali pada Sn yang justru dipilih isotop dengan *abundance* yang rendah yaitu ^{119}Sn . Linearitas yang tidak bagus di kedua isotop lainnya menjadi pertimbangan pemilihan isotop ^{119}Sn . Isotop ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As dan ^{119}Sn dipilih untuk proses validasi metode dengan *abundance* masing-masing 52,4; 12,8; 29,86; 100 dan 8,59%.

4.4 Validasi Metode

a. Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantifikasi (LOQ) Metode

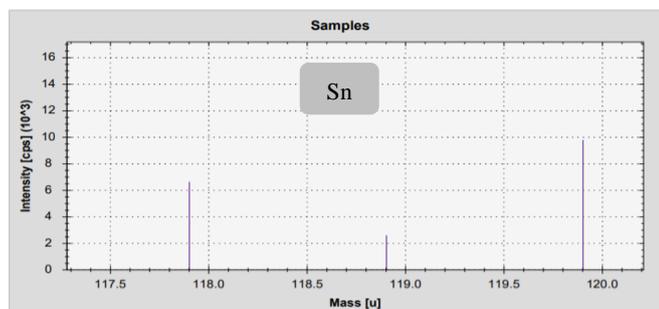
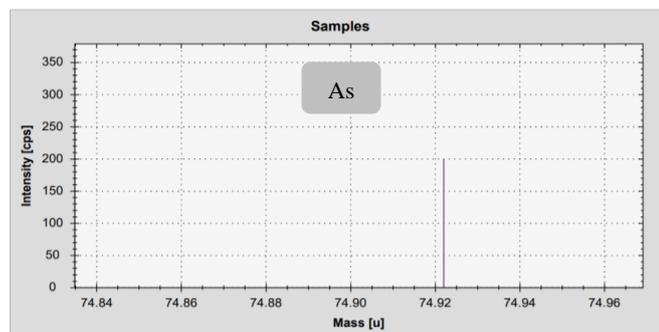
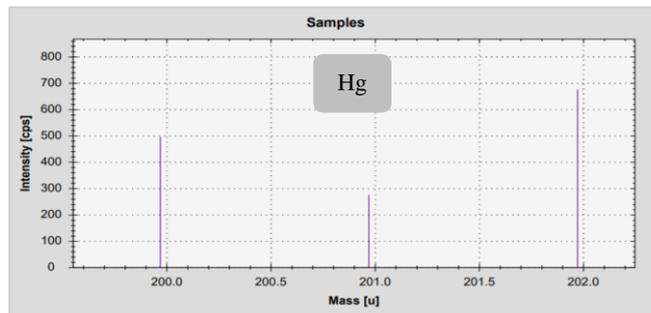
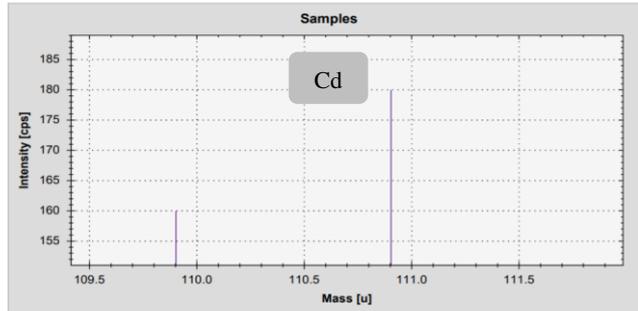
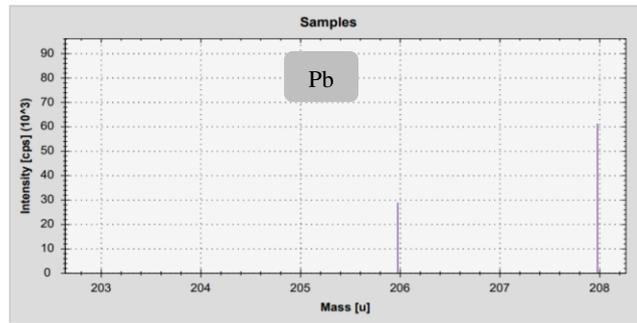
Limit deteksi metode merupakan konsentrasi terendah dari suatu analit dalam sampel yang dapat dideteksi dengan menggunakan metode analisis pada selang kepercayaan yang spesifik (Magnusson dan Ornemark 2014). Untuk menentukan nilai LOD metode dapat digunakan sampel yang tidak mengandung analit (*blank sample*) atau sampel dengan konsentrasi yang mendekati atau dibawah nilai perkiraan LOD. Karena sulit untuk menemukan *blank sample*, maka pada penelitian ini LOD metode ditentukan dengan menggunakan sampel tanpa *spike* yang dianalisis sebanyak minimal enam kali ulangan untuk selanjutnya dihitung nilai standar deviasinya. Nilai limit deteksi metode dihitung dengan menggunakan rumus $\frac{3SD}{\sqrt{n}}$ dan LOQ dihitung dengan rumus $\frac{10SD}{\sqrt{n}}$ (Magnusson dan Ornemark 2014).

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai LOD metode untuk analit Pb, Cd, Hg, As, Sn berturut-turut : 0,74; 0,41; 0,08; 0,50; 0,69 ng/g, sedangkan nilai LOQ : 2,48; 1,36; 0,27; 1,67; 2,30 ng/g (Tabel 17). Nilai tersebut tidak dilakukan pembuktian lebih lanjut karena konsentrasi analit dalam sampel tersebut sudah mendekati nilai LOD. Nilai LOD metode untuk logam berat 13-125 kali lebih kecil dibandingkan batas maksimum yang diijinkan berdasarkan Perka BPOM No 5 Tahun 2018. Hal ini mengindikasikan bahwa metode dapat diaplikasikan untuk memenuhi regulasi BPOM. Pada publikasi lain dengan menggunakan instrumen dan matriks yang sama memiliki nilai LOD dan LOQ metode yang hampir sama bahkan cenderung lebih besar yaitu sebesar 2; 0,8; 1 ng/g, dan 6, 1, dan 2 ng/g untuk Pb, Cd, As (Lo Dico *et al.* 2015), sedangkan berdasarkan Briscoe *et al.* (2015), nilai LOQ metode sebesar 4; 1; 3; 2 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As.

Tabel 17 Nilai LOD dan LOQ metode untuk analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn

| Parameter | Analit (ng/g) | | | | |
|-----------|---------------|------|------|------|------|
| | Pb | Cd | Hg | As | Sn |
| LOD | 0,74 | 0,41 | 0,08 | 0,50 | 0,69 |
| LOQ | 2,48 | 1,36 | 0,27 | 1,67 | 2,30 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 5 Mass spectra logam Pb, Cd, Hg, As dan Sn

b. Linearitas Metode

Berbeda dengan linearitas instrumen, uji linearitas metode dilakukan dengan menggunakan matriks susu formula bayi yang di *spike* secara bertingkat dengan larutan standar setelah proses penimbangan dan sebelum proses destruksi sampel. Konsentrasi analit yang ditambahkan adalah : 5; 10; 15; 20; 25; 30 ng/g untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan 5; 10; 15; 20; 25; 30 µg/g untuk analit Sn, masing-masing sebanyak tiga ulangan di setiap tingkat konsentrasi. Linearitas metode ditentukan dengan kurva kalibrasi yang merupakan hubungan antara konsentrasi analit dalam sampel *spike* (ng/g) pada sumbu x dan respon analisis berupa nilai intensitas (CPS) pada sumbu y. Dari kurva kalibrasi diperoleh nilai *slope*, *intercept* dan koefisien determinasi seperti yang tertera pada Tabel 18. Linearitas yang baik ditandai dengan nilai $R^2 \geq 0,990$ (AOAC 2013). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa semua analit mempunyai nilai $R^2 \geq 0,990$, sehingga metode analisis memiliki linearitas yang baik karena mampu memberikan respon secara proporsional dengan meningkatnya konsentrasi analit di dalam sampel.

Tabel 18 Linearitas metode untuk analit ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn

| Parameter | Analit | | | | |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | ^{208}Pb | ^{111}Cd | ^{202}Hg | ^{75}As | ^{119}Sn |
| Linearitas metode | | | | | |
| <i>Slope</i> | 0,0031 | 0,0003 | 0,0004 | 0,0140 | 0,0002 |
| <i>Intercept</i> | 0,0756 | 0,0020 | 0,0033 | 0,0447 | 0,0070 |
| R^2 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 0,998 | 1,000 |

c. Presisi dan Akurasi Logam Pb, Cd dan Hg menggunakan CRM

Presisi merupakan derajat kedekatan antar pengulangan hasil analisis (Magnusson dan Ornemark 2014). Pada penelitian ini nilai presisi ditentukan dengan menggunakan CRM yaitu matriks *skimmed milk powder* yang konsentrasinya telah diketahui untuk analit Pb, Cd, dan Hg. CRM yang digunakan adalah ERM BD 150 *Certified Reference Material "Skimmed Milk Powder"* dari *European Commission, Belgia*. CRM dipreparasi dan diinjeksikan ke dalam ICP-MS sebagaimana perlakuan terhadap sampel uji. Presisi yang baik ditentukan dengan nilai RSD analisis $< 2/3$ RSD Horwitz (Magnusson dan Ornemark 2014). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa hasil analisis terhadap CRM (n=8) memiliki nilai RSD analisis berturut-turut 10,68; 2,52; dan 3,28 untuk analit Pb, Cd, dan Hg. Nilai RSD analisis tersebut masih dibawah nilai $2/3$ RSD Horwitz yaitu 19,30; 20,90; dan 16,49 untuk analit Pb, Cd, dan Hg (Tabel 19). Berdasarkan hal tersebut dapat dinyatakan bahwa metode analisis memiliki presisi yang baik.

Akurasi merupakan derajat kedekatan hasil analisis dengan nilai yang sebenarnya (Magnusson dan Ornemark 2014). Nilai akurasi pada penelitian ini ditentukan dengan menggunakan CRM. Akurasi dinyatakan memenuhi syarat keberterimaan jika hasil analisis dari semua ulangan berada pada rentang konsentrasi yang terdapat dalam CoA (*Certificate of Analysis*) dan nilai perolehan kembalinya berada pada rentang yang dipersyaratkan berdasarkan AOAC (2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi yang terbaca untuk masing-masing analit Pb, Cd, dan Hg adalah : 19,47; 11,37; dan

55,30 ng/g. Nilai tersebut masih berada pada rentang konsentrasi yang ada pada CoA yaitu berturut-turut : $19,0 \pm 4$; $11,4 \pm 2,9$; dan 60 ± 7 ng/g untuk analit Pb, Cd, dan Hg. Nilai perolehan kembali (*recovery*) untuk masing-masing analit Pb, Cd, dan Hg berturut-turut : 102,68; 99,75; dan 92,17% (Tabel 19). Nilai perolehan kembali pada penelitian ini memenuhi syarat keberterimaan berdasarkan AOAC (2016) yaitu berada pada rentang 60-115%. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dinyatakan bahwa metode analisis memiliki nilai akurasi yang memenuhi persyaratan.

Tabel 19 Presisi dan akurasi metode analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS menggunakan CRM (n=8)

| Analit | Konsentrasi terbaca (ng/g) | | Konsentrasi dalam CoA | Recovery (%) | | RSD _a (%) | 2/3 RSD _H (%) |
|--------|----------------------------|--------|-----------------------|--------------|--------|----------------------|--------------------------|
| | Rentang | Rataan | | Rentang | Rataan | | |
| Pb | 16,3-21,7 | 19,47 | $19,0 \pm 4$ | 85,64-114,06 | 102,47 | 10,68 | 19,30 |
| Cd | 11,0-11,8 | 11,37 | $11,4 \pm 2,9$ | 96,37-103,80 | 99,75 | 2,52 | 20,90 |
| Hg | 53,8-58,1 | 55,30 | 60 ± 7 | 89,59-96,86 | 92,17 | 3,28 | 16,49 |

Keterangan: RSD_a : RSD analisis; RSD_H : RSD Horwitz

d. Presisi dan Akurasi Logam Pb, Cd, Hg, As dan Sn menggunakan Uji *Recovery*

Pada tahap ini nilai presisi ditentukan dengan menggunakan sampel yang *dispike* dengan konsentrasi pada batas persyaratan berdasarkan Perka BPOM No. 5 Tahun 2018 yaitu 10 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10 µg/g untuk Sn. Sampel selanjutnya dipreparasi dan diinjeksikan ke dalam ICP-MS. Presisi yang baik ditentukan dengan nilai RSD analisis < 2/3 RSD Horwitz. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa nilai RSD analisis untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn masing-masing adalah : 9,81; 2,60; 7,18; 4,56, dan 2,11% (Tabel 20). Nilai tersebut masih berada dibawah nilai RSD Horwitz yaitu : 21,93; 21,50; 21,92; 21,38; dan 7,48%, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode analisis memiliki presisi yang baik karena memiliki nilai RSD analisis < 2/3 RSD Horwitz.

Nilai akurasi ditentukan dengan menghitung nilai perolehan kembali (*recovery*) untuk setiap ulangan (minimal 6 ulangan) sampel yang di *spike* pada batas persyaratan. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh nilai *recovery* untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn masing-masing : 83,92; 96,04; 84,44; 98,99; 105,98% (Tabel 20). Nilai tersebut memenuhi syarat keberterimaan *recovery* berdasarkan AOAC (2016) yaitu sebesar 60-115% untuk *spike* pada konsentrasi 10 ng/g dan 80-110% untuk *spike* pada konsentrasi 10 µg/g.

e. Reprodusibilitas Intralab

Reprodusibilitas intralab merupakan salah satu parameter yang juga digunakan untuk menguji presisi metode. Reprodusibilitas intralab menunjukkan kesesuaian hasil analisis pada kondisi berbeda yang dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan instrumen, sampel, dan personel yang sama namun dilakukan pada waktu yang berbeda.

Pengujian dilakukan selama 3 minggu berturut-turut menggunakan sampel yang di *spike* dengan larutan standar sebesar 20 ng/g untuk Pb, Cd, Hg, As dan 10 µg/g untuk Sn. Parameter yang dievaluasi adalah nilai RSD analisis pada tiga minggu yang berbeda. Kadar logam Pb, Cd, Hg, As dan Sn yang diperoleh dari

Tabel 20 Presisi dan akurasi metode analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS menggunakan sampel *spike* (n=6)

| Analit | Konsentrasi terbaca (ng/g) | | Recovery (%) | | RSDa (%) | 2/3 RSD _H (%) |
|--------|----------------------------|----------|---------------|--------|----------|--------------------------|
| | Rentang | Rataan | Rentang | Rataan | | |
| Pb | 7,76-9,93 | 8,32 | 77,85-99,59 | 83,92 | 9,81 | 21,93 |
| Cd | 9,23-9,83 | 9,51 | 92,57-102,33 | 96,04 | 2,60 | 21,50 |
| Hg | 7,78-9,33 | 8,36 | 78,07-97,08 | 84,44 | 7,18 | 21,92 |
| As | 9,11-10,39 | 9,87 | 91,51-104,18 | 98,99 | 4,56 | 21,38 |
| Sn | 10162,89-10748,98 | 10561,45 | 101,97-107,66 | 105,98 | 2,11 | 7,48 |

Keterangan: RSDa : RSD analisis; RSD_H : RSD Horwitz

tiga minggu pengujian dapat dilihat pada Tabel 21. Secara keseluruhan nilai RSD analisis lebih kecil dari RSD Horwitz, sehingga dapat memenuhi syarat keberterimaan presisi.

Perbedaan antara analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, minggu 2, dan minggu 3 juga dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA Satu Arah (*One-Way ANOVA*). *One-Way ANOVA* merupakan analisis parametrik dan terdapat asumsi yang harus terpenuhi terlebih dahulu, yaitu normalnya distribusi masing-masing kelompok data yang akan diolah. Dalam beberapa contoh, data tidak dapat dibuat asumsi tersebut, sehingga analisis data dapat dilakukan dengan metode non-parametrik atau metode tanpa distribusi seperti Uji *Kruskal-Wallis*.

Tabel 21 Hasil pengujian reproduibilitas intralab sampel susu formula bayi dengan *spiked* (n=3)

| Minggu ke | Kadar analit (ng/g) | | | | |
|-----------|---------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | ²⁰⁸ Pb | ¹¹¹ Cd | ²⁰² Hg | ⁷⁵ As | ¹¹⁹ Sn |
| 1 | 19,75 ± 1,97 | 20,37 ± 0,06 | 21,41 ± 0,51 | 20,95 ± 0,70 | 10471,64 ± 234,80 |
| 2 | 18,12 ± 0,54 | 21,11 ± 0,68 | 19,83 ± 0,18 | 19,13 ± 1,07 | 10092,38 ± 235,56 |
| 3 | 20,19 ± 0,34 | 20,49 ± 1,73 | 20,54 ± 0,24 | 20,72 ± 1,90 | 9982,53 ± 215,04 |
| Rata2 | 19,35 ± 1,09 | 20,66 ± 0,40 | 20,59 ± 0,79 | 20,27 ± 0,99 | 10182,18 ± 256,62 |
| RSD(%) | 5,64 | 1,91 | 3,84 | 4,90 | 2,52 |
| RSDH(%) | 28,97 | 28,69 | 28,70 | 28,77 | 11,28 |

1) Uji Normalitas Data

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dengan bantuan program SPSS versi 23.0 dan menggunakan alpha (α) = 0,05. Hasil rekapitulasi uji normalitas data disajikan pada Tabel 22 dan Lampiran 1. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa secara keseluruhan masing-masing kelompok data memiliki nilai *p-value* lebih besar dari 0,05 yang menunjukkan bahwa data tersebut memiliki distribusi yang normal, kecuali pada kelompok data analit Hg pada minggu ke 3 yang memiliki nilai *p-value* lebih kecil dari 0,05 sehingga untuk analit Hg distribusinya tidak normal. Distribusi yang tidak normal ini kemungkinan disebabkan karena analit Hg bersifat volatil yang mudah hilang selama proses preparasi sampel. Dengan hasil tersebut, uji statistik dilakukan menggunakan metode

parametrik *One-Way ANOVA* pada kelompok data analit Pb, Cd, As, Sn dan metode non-parametrik *Kruskal-Wallis* pada kelompok data analit Hg.

Tabel 22 Rekapitulasi hasil uji normalitas data untuk reproduibilitas intralab

| Variabel | Minggu | Shapiro-Wilk | | | Kesimpulan |
|-----------|----------|--------------|----|---------|--------------|
| | | Statistic | df | P-value | |
| Analit Pb | Minggu 1 | 0,896 | 3 | 0,374 | Normal |
| | Minggu 2 | 0,988 | 3 | 0,794 | Normal |
| | Minggu 3 | 0,995 | 3 | 0,869 | Normal |
| Analit Cd | Minggu 1 | 0,999 | 3 | 0,954 | Normal |
| | Minggu 2 | 0,976 | 3 | 0,703 | Normal |
| | Minggu 3 | 1,000 | 3 | 0,995 | Normal |
| Analit Hg | Minggu 1 | 0,916 | 3 | 0,438 | Normal |
| | Minggu 2 | 0,836 | 3 | 0,203 | Normal |
| | Minggu 3 | 0,753 | 3 | 0,007 | Tidak Normal |
| Analit As | Minggu 1 | 0,901 | 3 | 0,388 | Normal |
| | Minggu 2 | 0,998 | 3 | 0,917 | Normal |
| | Minggu 3 | 0,872 | 3 | 0,302 | Normal |
| Analit Sn | Minggu 1 | 0,989 | 3 | 0,798 | Normal |
| | Minggu 2 | 0,848 | 3 | 0,235 | Normal |
| | Minggu 3 | 0,952 | 3 | 0,578 | Normal |

Sumber: Lampiran Output SPSS

2) Uji Perbandingan

Hasil uji statistik *One-Way ANOVA* dan *Kruskal-Wallis* terhadap analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2, dan 3 disajikan pada Tabel 23 dan Lampiran 1. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa seluruh kelompok data memiliki nilai *p-value* lebih besar dari 0,05 kecuali pada kelompok data analit Hg yang memiliki nilai *p-value* lebih kecil dari 0,05. Nilai *p-value* yang lebih besar dari 0,05 menunjukkan bahwa kelompok data tidak memiliki perbedaan yang signifikan, sebaliknya nilai *p-value* lebih kecil dari 0,05 menunjukkan kelompok data memiliki perbedaan yang signifikan sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan untuk analit Pb, Cd, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2, 3 dan terdapat perbedaan untuk analit Hg pada pengukuran 1, 2 dan 3.

Perbedaan analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2 dan 3 secara lebih rinci untuk setiap periode dapat diketahui dengan uji lanjut menggunakan uji *Tukey HSD* untuk kelompok analit Pb, Cd, As, Sn dan *Mann Whitney* untuk kelompok analit Hg. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 24 dan Lampiran 1. Berdasarkan Tabel 24 terlihat bahwa dari seluruh kelompok data yang diujikan, seluruh perbandingan data tidak terdapat perbedaan signifikan yang ditunjukkan dengan nilai *p-value* lebih besar dari nilai α (0,05). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa secara parsial tidak terdapat perbedaan nilai data pada analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, minggu 2, dan minggu 3.

Tabel 23 Rekapitulasi hasil uji *One-Way ANOVA* dan *Kruskal-Wallis* analit Pb, Cd, Hg, As, dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2 dan 3

| Variabel | Waktu | Rata-rata (ng/g) | Standar Deviasi | P-value | Kesimpulan |
|-----------|----------|------------------|-----------------|---------|-------------------------------------|
| Analit Pb | Minggu 1 | 19,751 | 1,973 | 0,163* | Tidak terdapat perbedaan signifikan |
| | Minggu 2 | 18,119 | 0,540 | | |
| | Minggu 3 | 20,189 | 0,342 | | |
| Analit Cd | Minggu 1 | 20,371 | 0,059 | 0,684* | Tidak terdapat perbedaan signifikan |
| | Minggu 2 | 21,109 | 0,679 | | |
| | Minggu 3 | 20,495 | 1,731 | | |
| Analit Hg | Minggu 1 | 21,407 | 0,515 | 0,027** | Terdapat perbedaan signifikan |
| | Minggu 2 | 19,827 | 0,180 | | |
| | Minggu 3 | 20,539 | 0,245 | | |
| Analit As | Minggu 1 | 20,950 | 0,696 | 0,261* | Tidak terdapat perbedaan signifikan |
| | Minggu 2 | 19,129 | 1,069 | | |
| | Minggu 3 | 20,725 | 1,901 | | |
| Analit Sn | Minggu 1 | 10471,640 | 234,796 | 0,087* | Tidak terdapat perbedaan signifikan |
| | Minggu 2 | 10092,384 | 235,560 | | |
| | Minggu 3 | 9982,527 | 215,036 | | |

* *One-Way ANOVA*; ***Kruskal-Wallis Test*

Sumber: Lampiran Output SPSS

Tabel 24 Kesimpulan Uji *Tukey HSD* dan *Mann Whitney* untuk analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada pengukuran minggu 1, 2 dan 3

| Dependent Variable | (I) Minggu | (J) Minggu | Sig. | Kesimpulan |
|----------------------------------|------------|------------|-------|--------------------------|
| Analit Pb <i>Tukey HSD</i> | Minggu 1 | Minggu 2 | 0,291 | Tidak berbeda signifikan |
| | | Minggu 3 | 0,897 | Tidak berbeda signifikan |
| | Minggu 2 | Minggu 3 | 0,166 | Tidak berbeda signifikan |
| Analit Cd <i>Tukey HSD</i> | Minggu 1 | Minggu 2 | 0,694 | Tidak berbeda signifikan |
| | | Minggu 3 | 0,989 | Tidak berbeda signifikan |
| | Minggu 2 | Minggu 3 | 0,772 | Tidak berbeda signifikan |
| Analit Hg <i>Mann Whitney</i> | Minggu 1 | Minggu 2 | 0,100 | Tidak berbeda signifikan |
| | | Minggu 3 | 0,100 | Tidak berbeda signifikan |
| | Minggu 2 | Minggu 3 | 0,100 | Tidak berbeda signifikan |
| Analit As <i>Tukey HSD</i> | Minggu 1 | Minggu 2 | 0,284 | Tidak berbeda signifikan |
| | | Minggu 3 | 0,977 | Tidak berbeda signifikan |
| | Minggu 2 | Minggu 3 | 0,364 | Tidak berbeda signifikan |
| Analit Sn <i>Tukey HSD</i> | Minggu 1 | Minggu 2 | 0,185 | Tidak berbeda signifikan |
| | | Minggu 3 | 0,088 | Tidak berbeda signifikan |
| | Minggu 2 | Minggu 3 | 0,831 | Tidak berbeda signifikan |

Sumber: Lampiran Output SPSS

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

f. Robustness

Robustness merupakan salah satu parameter validasi metode analisis untuk mengetahui ketahanan metode terhadap perubahan kecil dari variabelnya. Pada penelitian ini dilakukan perubahan terhadap volume HNO₃ *suprapur* yang digunakan untuk proses destruksi sampel. Pada metode baku AOAC *Official Method* 2015.01 digunakan 5 mL HNO₃ *suprapur*, pada uji robustness volume HNO₃ *suprapur* diubah menjadi 4,5 mL. Hasil analisis kemudian dibandingkan dengan menggunakan uji-t.

Berdasarkan hasil uji-t terhadap perbedaan hasil analisis pada penambahan HNO₃ 65% *suprapur* 5 mL dan HNO₃ 65% *suprapur* 4,5 mL dapat diketahui bahwa seluruh kelompok data memiliki nilai *p-value* lebih besar dari 0,05 (Tabel 25, Lampiran 2) yang menunjukkan bahwa kelompok data tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Dengan demikian metode analisis *robust* karena tidak terpengaruh dengan adanya perubahan kecil pada variabelnya yaitu volume HNO₃ 65% *suprapur*.

Tabel 25 Rekapitulasi perbandingan hasil analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada penambahan HNO₃ 5 mL (ng/g) dan HNO₃ 4,5 mL (ng/g)

| Analit | Variabel | Rata-Rata±SD (ng/g) | RSD (%) | <i>P value</i> | Kesimpulan |
|--------|-------------------------|------------------------|------------|----------------|--------------------------|
| Pb | HNO ₃ 5 mL | 19,75 ± 1,97 | 9,99 | 0,395* | Tidak berbeda signifikan |
| | HNO ₃ 4,5 mL | 19,37 ± 1,11 | 5,75 | | |
| Cd | HNO ₃ 5 mL | 22,10 ± 0,60 | 2,72 | 0,265* | Tidak berbeda signifikan |
| | HNO ₃ 4,5 mL | 22,46 ± 0,70 | 3,11 | | |
| Hg | HNO ₃ 5 mL | 21,41 ± 0,52 | 2,40 | 0,091* | Tidak berbeda signifikan |
| | HNO ₃ 4,5 mL | 20,66 ± 0,62 | 2,98 | | |
| As | HNO ₃ 5 mL | 20,95 ± 0,70 | 3,32 | 0,287* | Tidak berbeda signifikan |
| | HNO ₃ 4,5 mL | 21,47 ± 1,26 | 5,87 | | |
| Sn | HNO ₃ 5 mL | 9982,53 ± 215,04 | 2,15 | 0,424* | Tidak berbeda signifikan |
| | HNO ₃ 4,5 mL | 10009,75 ± 34,18 | 0,34 | | |

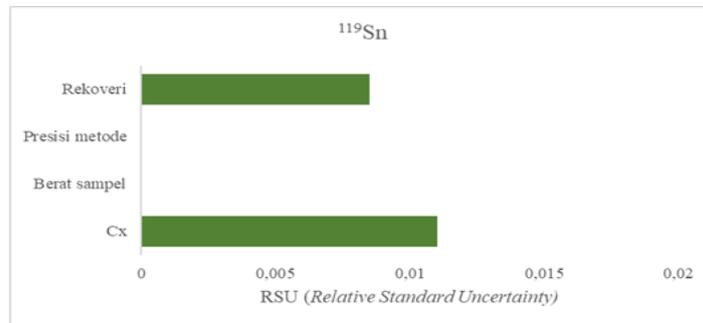
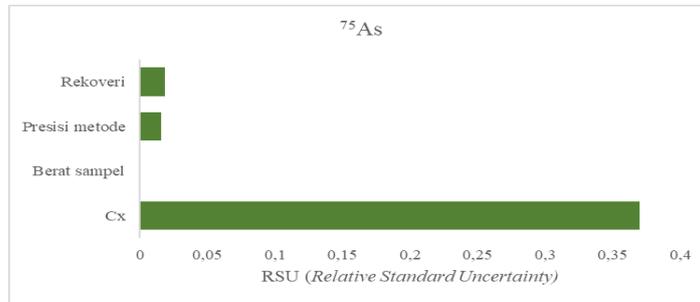
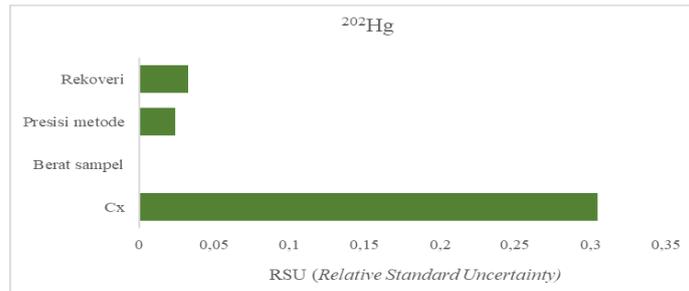
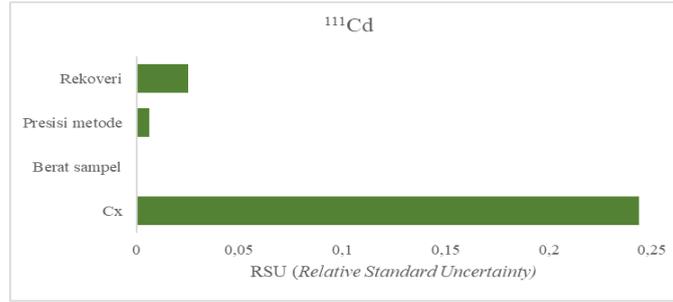
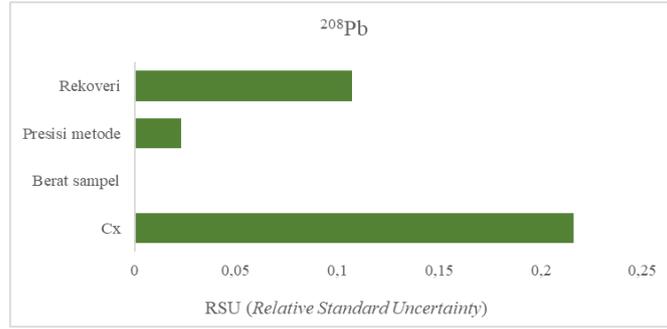
*Uji t

4.5 Ketidakpastian Pengukuran (*Uncertainty*)

Hasil pengukuran parameter validasi dapat digunakan untuk mengestimasi ketidakpastian pengukuran yang juga harus ditentukan dalam proses validasi metode analisis. Estimasi ketidakpastian pengukuran diperlukan untuk mengetahui seberapa besar ketelitian suatu hasil pengukuran. Perhitungan ketidakpastian pengukuran pada penelitian ini menggunakan dua pendekatan yaitu pendekatan *bottom up* dan *top down*. Pada pendekatan *bottom up*, sumber-sumber ketidakpastian pengukuran diidentifikasi kemudian dituangkan dalam diagram tulang ikan seperti yang tertera pada Gambar 3.

Gambar 6 menyajikan ketidakpastian relatif yang berkontribusi sebagai sumber kesalahan pada pendekatan *bottom up*. Sumber-sumber ketidakpastian yang berkontribusi dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 26. Diantara keempat sumber ketidakpastian dalam analisis logam berat dan Sn dalam susu formula bayi, Csampel (Cx) memberikan kontribusi tertinggi dengan nilai RSU (*Relative Standard Uncertainty*) untuk masing-masing analit Pb, Cd, Hg, As, Sn yaitu sebesar : 0,22; 0,24; 0,30; 0,37; 0,01. Hal ini disebabkan pada Csampel, parameter yang

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 6 ketidakpastian relatif yang berkontribusi sebagai sumber kesalahan pada pendekatan *bottom up*

Tabel 26 Sumber ketidakpastian yang berkontribusi pada pendekatan *bottom up*

| No | Sumber ketidakpastian |
|----|-----------------------|
| 1 | Csampel (Cx) |
| 2 | Berat sampel |
| 3 | Presisi metode |
| 4 | <i>Recovery</i> |

menyumbang ketidakpastian relatif lebih banyak dibandingkan kontribusi lainnya. Parameter tersebut tercakup dalam proses pembuatan kurva kalibrasi untuk menentukan konsentrasi sampel (Csampel).

Nilai ketidakpastian relatif dari setiap sumber ketidakpastian kemudian digabungkan dan diperoleh nilai ketidakpastian gabungan (U_c). Nilai U_c selanjutnya dikalikan dengan faktor cakupan (k) 2 pada tingkat kepercayaan 95%. Nilai ini disebut ketidakpastian diperluas (U_{exp}). Berdasarkan hasil perhitungan, nilai ketidakpastian diperluas untuk masing-masing analit Pb, Cd, Hg, As dan Sn adalah : 7,06; 7,62; 7,22; 8,64; dan 334,24 ng/g (Tabel 27).

Pada pendekatan *top down*, parameter yang diukur adalah ketidakpastian baku asal reproduibilitas (U_R) dan ketidakpastian baku asal bias (U_{bias}). Pada penelitian ini ketidakpastian baku asal reproduibilitas dihitung dengan menggunakan data uji reproduibilitas intralab, sedangkan ketidakpastian baku asal bias (U_{bias}) dihitung dengan menggunakan CRM. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai ketidakpastian diperluas sebesar : 5,14; 3,11; dan 11,62 ng/g untuk analit Pb, Cd dan Hg (Tabel 27).

Nilai ketidakpastian diperluas untuk semua analit pada penelitian ini dengan pendekatan *bottom up* lebih tinggi dibandingkan pada publikasi lain berdasarkan Lo Dico *et al.* (2015) dengan matriks dan instrumen yang sama, kecuali As yang memiliki nilai ketidakpastian diperluas lebih rendah (Tabel 27). Hal ini disebabkan pada publikasi lain, sumber-sumber yang berkontribusi dalam pengukuran ketidakpastian lebih sedikit dibandingkan pada penelitian ini. Pada publikasi berdasarkan Lo Dico *et al.* (2015), sumber-sumber ketidakpastian diantaranya adalah pembuatan larutan standar, rekovery dan reproduibilitas intralab, sedangkan pada penelitian ini Csampel, berat sampel, presisi metode dan rekovery. Pada pendekatan *top down*, nilai ketidakpastian diperluas dalam penelitian ini hampir sama dibandingkan dengan nilai ketidakpastian diperluas yang tercantum dalam sertifikat CRM, kecuali Hg yang pada penelitian ini nilainya lebih tinggi.

Nilai ketidakpastian diperluas menyumbang lebih dari 40% tingkat ketidakpastian pada pendekatan *bottom up* kecuali pada analit Sn yang hanya menyumbang 3,28%, sedangkan untuk pendekatan *top down* sebesar 21,01–27,35%. Pada analisis rutin penetapan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS di laboratorium, nilai ketidakpastian diperluas ini wajib dicantumkan dalam sertifikat hasil pengujian sebagai salah satu yang dipersyaratkan dalam ISO 17025 tahun 2017.

4.6 Aplikasi metode analisis Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada produk lain yang memiliki matriks sama

Metode analisis yang telah tervalidasi selanjutnya diaplikasikan untuk analisis kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn pada produk lain yang memiliki matriks sama. Produk tersebut diantaranya adalah susu formula lanjutan untuk usia 6-12 bulan

Tabel 27 Perbandingan U_{exp} pada penelitian ini dengan publikasi lain

| Pendekatan | Ketidakpastian diperluas (U_{exp}) (ng/g) | | | | | Sumber |
|------------|-----------------------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|----------------------------------------------|
| | ^{208}Pb | ^{111}Cd | ^{202}Hg | ^{75}As | ^{119}Sn | |
| Bottom up | 7,06 | 7,62 | 7,22 | 8,64 | 334,24 | Uncertainty pada penelitian ini |
| Top down | 5,14 | 3,11 | 11,62 | - | - | |
| Bottom up | 5,90 | 4,90 | - | 10,30 | 150,00 | Lo Dico <i>et al.</i> 2015 Sertifikat CRM |
| Top down | 4,00 | 2,90 | 7,00 | - | - | |

Keterangan: - tidak dievaluasi

dan susu formula pertumbuhan untuk usia 12-36 bulan dengan masing-masing dua brand yang berbeda. Analisis dilakukan terhadap sampel tanpa *spike* dan sampel dengan *spike* sebesar 20 ng/g untuk Pb, Cd, Hg As dan 10 $\mu\text{g/g}$ untuk Sn masing-masing tiga ulangan. Hasil analisis dalam sampel dibandingkan dengan maksimum level berdasarkan Perka BPOM Nomor 5 Tahun 2018, sedangkan pada sampel *spike* dievaluasi nilai presisi dan *recovery*-nya (Tabel 28-31). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar Pb, Cd Hg, As dan Sn memenuhi syarat berdasarkan Perka BPOM No. 5 Tahun 2018 baik pada produk susu formula lanjutan maupun susu formula pertumbuhan. Pb dengan konsentrasi lebih besar dari LOQ hanya ditemukan pada satu sampel susu formula pertumbuhan yaitu 4,03 ng/g, dan satu sampel susu formula pertumbuhan lainnya memiliki konsentrasi *trace* (diatas LOD, namun masih dibawah LOQ) yaitu sebesar 2,33 ng/g. Pada dua sampel susu formula lanjutan tidak terdeteksi adanya Pb, hal yang sama untuk analit Hg yang tidak terdeteksi pada semua sampel yang diuji. Hasil yang lebih bervariasi pada analit Cd dengan rentang konsentrasi 1,51-8,15 ng/g, analit As dengan rentang konsentrasi 2,23-7,73 ng/g dan analit Sn dengan rentang konsentrasi 1,50-51,18 ng/g.

Hasil analisis yang sedikit berbeda terdapat pada publikasi lain berdasarkan Sorbo *et al.* (2014), yaitu Pb dengan rentang konsentrasi 4,5-11,6 ng/g; Cd 1,2-5,0 ng/g; serta As dengan konsentrasi diatas nilai LOQ yaitu 7 ng/g hanya pada satu sampel sedangkan yang lainnya memiliki konsentrasi dibawah LOQ. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh penggunaan mode analisis yang berbeda. Pada penelitian ini menggunakan mode KED (*Kinetic Energy Discrimination*) dengan gas helium sebagai *collision gas* untuk semua analit yang diuji, sedangkan pada publikasi lain berdasarkan Sorbo *et al.* (2014) menggunakan mode DRC (*Dynamic Reaction Cell*) untuk As dengan hidrogen sebagai *reaction gas*, dan untuk Pb, Cd menggunakan mode *standard* atau tanpa gas. Isotop Cd yang digunakan juga berbeda, pada penelitian lain menggunakan ^{114}Cd , sedangkan penelitian ini menggunakan isotop ^{111}Cd serta penggunaan standar internal yang berbeda untuk analit Pb yang pada penelitian ini menggunakan Bismuth (Bi), pada publikasi lain menggunakan Lutetium (Lu).

Hasil analisis juga dievaluasi nilai presisi dan *recovery*-nya terutama pada sampel yang *dispike*. Hasil analisis pada susu formula lanjutan maupun susu formula pertumbuhan memiliki nilai presisi yang baik karena nilai RSD analisis masih dibawah nilai 2/3 RSD Horwitz. Hal yang sama pada uji *recovery*, semua hasil analisis memenuhi syarat keberterimaan *recovery* berdasarkan AOAC (2016) yaitu 60-115% untuk *spike* pada konsentrasi 20 ng/g dan 80-110% untuk *spike* pada konsentrasi 10 mg/kg. Dengan demikian metode analisis penetapan simultan kadar Pb, Cd, Hg, As dan Sn dengan ICP-MS yang telah tervalidasi dapat diaplikasikan untuk analisis pada matriks yang sejenis dengan susu formula bayi.

Tabel 28 Kadar ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn dalam sampel susu formula lanjutan untuk usia 6-12 bulan (n=3)

| Analit | Sampel | Kadar dalam sampel rata-rata \pm SD (ng/g) | Maksimum level (Perka BPOM No. 5/2018 (ng/g) |
|--------|--------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Pb | A | ttd | 10 |
| | B | ttd | |
| Cd | A | 1,74 \pm 0,16 | 10 |
| | B | 2,02 \pm 0,29 | |
| Hg | A | ttd | 10 |
| | B | ttd | |
| As | A | 2,23 \pm 0,24 | 20 |
| | B | 3,13 \pm 0,23 | |
| Sn | A | 51,18 \pm 9,04 | 10000 |
| | B | 1,50 \pm 0,21 | |

Keterangan : perhitungan didasarkan pada basis kering

Tabel 29 Presisi dan *recovery* dengan sampel *spike* pada susu formula lanjutan untuk usia 6-12 bulan (n=3)

| Analit | Sampel | Kadar yang di <i>spike</i> (ng/g) | Kadar dalam sampel <i>spike</i> -kadar dalam sampel \pm SD (ng/g) | RSD (%) | 2/3 RSDH (%) | <i>Recovery</i> (%) |
|--------|--------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------|--------------|---------------------|
| Pb | A | 19,96 | 13,50 \pm 0,13 | 0,96 | 20,39 | 67,08-68,37 |
| | B | 19,96 | 17,31 \pm 0,43 | 2,50 | 19,64 | 84,42-88,62 |
| Cd | A | 19,96 | 19,40 \pm 0,89 | 4,57 | 19,31 | 94,36-102,30 |
| | B | 19,96 | 21,27 \pm 0,94 | 4,42 | 19,04 | 101,51-110,93 |
| Hg | A | 19,96 | 17,34 \pm 2,85 | 16,41 | 19,64 | 71,17-98,95 |
| | B | 19,95 | 15,44 \pm 0,50 | 3,23 | 19,98 | 75,85-80,16 |
| As | A | 19,96 | 18,44 \pm 1,70 | 9,21 | 19,46 | 84,11-101,07 |
| | B | 19,95 | 18,72 \pm 0,91 | 4,88 | 19,41 | 89,06-98,25 |
| Sn | A | 9979,38 | 9995,74 \pm 71,40 | 0,71 | 7,54 | 99,71-101,02 |
| | B | 9977,39 | 10313,44 \pm 91,10 | 0,88 | 7,51 | 102,48-104,20 |

Keterangan : perhitungan didasarkan pada basis kering

Tabel 30 Kadar ^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{202}Hg , ^{75}As , ^{119}Sn dalam sampel susu formula pertumbuhan untuk usia 12-36 bulan (n=3)

| Analit | Sampel | Kadar dalam sampel rata-rata \pm SD (ng/g) | Maksimum level (Perka BPOM No. 5/2018 (ng/g) |
|--------|--------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Pb | A | 2,33 \pm 0,18 | 10 |
| | B | 4,03 \pm 0,36 | |
| Cd | A | 1,51 \pm 0,08 | 10 |
| | B | 8,15 \pm 0,60 | |
| Hg | A | ttd | 10 |
| | B | ttd | |
| As | A | 3,54 \pm 0,20 | 20 |
| | B | 7,73 \pm 0,63 | |
| Sn | A | 41,81 \pm 3,79 | 10000 |
| | B | 19,12 \pm 3,87 | |

Keterangan : perhitungan didasarkan pada basis kering

Tabel 31 Presisi dan *recovery* dengan sampel *spike* pada susu formula pertumbuhan untuk usia 12-36 bulan (n=3)

| Analit | Sampel | Kadar yang di <i>spike</i> (ng/g) | Kadar dalam sampel <i>spike</i> -kadar dalam sampel \pm SD (ng/g) | RSD (%) | 2/3 RSDH (%) | <i>Recovery</i> (%) |
|--------|--------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------|--------------|---------------------|
| Pb | A | 19,95 | 19,28 \pm 2,02 | 10,50 | 19,33 | 89,83- 108,35 |
| | B | 19,96 | 14,06 \pm 0,13 | 0,95 | 20,27 | 69,72- 71,06 |
| Cd | A | 19,95 | 20,71 \pm 0,53 | 2,60 | 19,18 | 99,77- 104,74 |
| | B | 19,96 | 19,63 \pm 2,18 | 11,09 | 19,27 | 88,80- 110,23 |
| Hg | A | 19,96 | 17,60 \pm 0,99 | 5,61 | 19,59 | 82,62- 91,96 |
| | B | 19,96 | 19,30 \pm 1,02 | 5,27 | 19,32 | 91,93- 102,09 |
| As | A | 19,95 | 20,54 \pm 0,60 | 2,91 | 19,14 | 99,52- 104,88 |
| | B | 19,96 | 19,75 \pm 1,33 | 6,71 | 19,26 | 92,97- 106,10 |
| Sn | A | 9976,72 | 9915,41 \pm 24,31 | 0,25 | 7,55 | 99,12-99,70 |
| | B | 9978,71 | 10286,17 \pm 106,19 | 1,03 | 7,51 | 101,89- 104,00 |

Keterangan : perhitungan didasarkan pada basis kering

© Hak cipta milik IPB University

V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Instrumen ICP-MS mempunyai linearitas yang baik untuk semua analit yang diujikan (Pb, Cd, Hg, As dan Sn) dengan R^2 lebih besar dari 0,9990. Nilai LOD instrumen secara berturut turut : 0,01 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 0,1 ng/mL untuk Sn, sedangkan LOQ instrumennya berturut-turut : 0,03 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 0,3 ng/mL untuk Sn. Pada konsentrasi LOQ instrumen yaitu 0,03 ng/mL untuk Pb, Cd, Hg, As dan 0,3 ng/mL untuk Sn juga mempunyai presisi rasio intensitas analit dengan standar internal yang baik yaitu nilai RSD < 2%.

Seluruh parameter validasi metode analisis penetapan simultan Pb, Cd, Hg, As dan Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS yang dimodifikasi dari metode AOAC *Official method* 2015.01 telah memenuhi syarat keberterimaan sehingga metode analisis dapat digunakan untuk analisis rutin di laboratorium. Nilai LOD metode untuk analit Pb, Cd, Hg, As, Sn berturut-turut : 0,74; 0,41; 0,08; 0,50; 0,69 ng/g, dan nilai LOQ metode : 2,48; 1,36; 0,27; 1,67; 2,30 ng/g. Nilai ini masih dibawah batas maksimum cemaran logam berat yang diijinkan berdasarkan Perka BPOM No 5 Tahun 2018 (10-20 ng/g) dan Sn (10 µg/g). *Recovery* analisis Pb, Cd, Hg dengan menggunakan CRM berkisar antara 92,17-102,47%, sedangkan pada sampel yang *dispike* berkisar antara 83,92-105,98% untuk Pb, Cd, Hg, As, Sn, dengan presisi 2,52-10,69% untuk CRM dan 2,11-9,81% untuk sampel *spike*.

Estimasi ketidakpastian pengukuran dihitung untuk mengetahui ketelitian suatu hasil pengukuran. Nilai ketidakpastian diperluas pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan publikasi lain maupun CRM. Metode analisis hasil validasi dapat diaplikasikan pada produk lain yang memiliki matriks sama dengan susu formula bayi yaitu susu formula lanjutan dan susu formula pertumbuhan dengan presisi dan *recovery* yang memenuhi syarat keberterimaan.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan uji reproduibilitas inter laboratorium yang melibatkan laboratorium lain yang terakreditasi dan memiliki kemampuan yang setara dengan laboratorium PPPOMN, BPOM. Selain itu perlu ditambahkan data uji *recovery* dengan *spike* pada konsentrasi tinggi dan rendah serta perlu ditambahkan parameter uji *robustness* misalnya penggunaan bahan kimia dengan merek yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdl-Khalik, Ayoub AGM, Raslan MT. 2013. Estimation of some heavy metals in cow's milk in zagazig city. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 59(138):74-78.
- Agilent. 2011. Agilent application note : succesful low level mercury analysis using the agilent 770 series ICP-MS. 5990-717EN.
- Ismail A, Riaz M, Akhtar S, Ismail T, Ahmad Z, Hashmi MS. 2015. Estimated daily intake and health risk of heavy metals by consumption of milk. *Journal of Food Additives and Contaminants : Part B Surveillance*. 8(4):260-265. DOI: 10.1080/19393210.2015.1081989.
- Akhtar S, Shahzad MA, Sang-Ho Yoo, Ismail A, Hameed A, Ismail T, dan Riaz M. 2017. Determination of aflatoxin M1 and heavy metals in infant formula milk brands available in pakistani markets. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 37(1):79-86. DOI : <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.1.79>.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2013. Appendix K: guidelines for dietary supplements and botanical. [diunduh 2019 May 9]. Tersedia pada <http://www.eoma.aoc.org/>
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2016. Appendix F: guidelines for standard method performance requirements. [diunduh 2019 May 9]. Tersedia pada <http://www.eoma.aoc.org/>
- Aslam B, Javed I, Hussain KF, Ur-Rahman Z. 2011. Uptake of heavy metal residues from sewerage sludge in the milk of goat and cattle during summer season. *Pakistan Veterinary Journal*. 31(1):75-77.
- Ataro A, McCrindle RI, Botha BM, McCrindle CME, Ndibewu. 2008. Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Journal of Food Chemistry*. 111(1): 243-248.
- Babu AJ, Supriya RA, Swetha CS, Suganya G, Reddy GV, Sasikala V, Surendra R, and Sreenivas KY. 2018. Estimation of chromium, copper and lead in milk by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry in Tirupati, Andhra Pradesh. *The Pharma Innovation Journal*. 7(8):90-93.
- Bahru TB, Hussen A, Rao VM. 2014. Determination of concentrations of selected heavy metals in cow's milk: Borena Zone, Ethiopia. *Journal of Health Science*. 4(5):105-112. DOI:10.5923/j.health.20140405.01.
- Batsala M, Chandu B, Sakala B, Nama S, Domatoti S. 2012. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *International Journal Of Research in Pharmacy and Chemistry*. 2(3):671-680.
- Bernard A. 2008. Cadmium & its adverse effects on human health. *Indian Journal Medical Research*. 128(4):557. 29.
- Bernhoft RA. 2012. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of Environmental and Public Health*. 2012:1-10. DOI: 10.1155/2012/460508.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2018. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2018 Tentang Batas Maksimum Cemar Logam Berat dalam Pangan Olahan. [diunduh 2019 Jan 9]. Tersedia pada www.pom.go.id.

- Briscoe M, Sullivan D, Alewijn M, Austad J, Boison J, Christiansen S, Cook JM, Vries JD, Indyk H, Joseph G, *et al.*. 2015. Determination of heavy metals in food by inductively coupled plasma–mass spectrometry first action 2015.01. *Journal of AOAC International*. 98(4):1113-1120.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 2970:2015 Susu Bubuk. Jakarta:Badan Standardisasi Nasional.
- Casey JF, Gao Y, Yang W, Thomas R. 2018. Spectroscopy e Book : Revolutionizing Sample Preparation with Single-Reaction Chamber Microwave Digestion. Milestone.
- Caussy D, Gochfeld M, Gurzau E, Neagu C, Ruedel H, 2003. Lesson from case studies of metals : investigating exposure, bioavailability, and risk. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56(1):45-51. DOI: 10.1016/s0147-6513(03)00049-6.
- [EC] European Union. 2006. Commission regulation (EC) no. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official journal of European Union*. 364:5-24.
- [EC] European Union. 2014. Commission regulation (EU) no. 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*. 138:75-79.
- EURACHEM. 2012. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition. A Joint EURACHEM/CITAC Working Group. United Kingdom.
- Evans EH, Gigliolo JJ. 1993. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry, a review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 8:1-18. doi : 10.1039/JA9930800001.
- Helaluddin ABM, Khalid RS, Alaama M, Abbas SA. 2016. Main analytical techniques used for elemental analysis in various matrices. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 15(2):427-434. DOI:10.4314/tjpr.v15i2.29.
- Hong YS, Song KH, Chung JY. 2014. Health effects of chronic arsenic exposure. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 47(5):245-252. DOI: 10.3961/jpmph.14.035.
- Gillis BS, Arbieva Z, Gavin IM. 2012. Analysis of lead toxicity in human cells. *BMC genomics*. 13(1):344. DOI: 10.1186/1471-2164-13-344.
- Girma K, Tilahun Z, Haimanot D. 2014. Review on milk safety with emphasis on its public health. *World Journal of Dairy and Food Sciences*. 9(2):166-83. DOI: 10.5829/idosi.wjdfs.2014.9.2.85184.
- Jain J dan Gauba P. 2017. Heavy metal toxicity-implications on metabolism and health. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 8(4):452-460. DOI: 10.22376/ijpbs.2017.8.4.b452-460.
- [JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2006. Combined compendium of food additive specifications: Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the food additive specifications. Rome (Italy): Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- [Kemenkes] Kementerian Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2014. Studi diet total : survei konsumsi makanan individu Indonesia.

- Khalifa AS, Ahmad D. 2010. Determination of key elements by ICP-OES in commercially available infant formulae and baby foods in Saudi Arabia. *African Journal of Food Science*. 4(2):464-468.
- Khan N, Jeong IS, Hwang IM, Kim JS, Choi SH, Nho EY, Choi JY, Park KS, Kim KS. 2014. Analysis of minor and trace elements in milk and yoghurt by inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP-MS). *Journal of Food Chemistry*. 147(2014):220-224. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.147.
- Kira CS, Maio FD, Maihara VA. 2004. Comparison of partial digestion procedures for determination of Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P and Zn in milk by Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrometry. *Journal of AOAC International*. 87(1):151-156. DOI:10.1093/jaoac/87.1.151.
- Kira CS, Maihara VA. 2005. Determination of major and minor elements in dairy products through inductively coupled plasma optical emission spectrometry after wet partial digestion and neutron activation analysis. *Journal of Food Chemistry*. 100(1):390-395.
- Knapek J, Herman V, Buchtova R, Vosmerova D. 2009. Determination of tin in canned foods by atomic absorption spectrophotometry. *Czech Journal of Food Sciences*. 27(1):S407-S409.
- Koki IB, Bayero AS, Umar A, Yusuf S. 2015. Health risk assessment of heavy metals in water, air, soil and fish. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 9(11):204-10. DOI: 10.5897/AJPAC2015.0654.
- Korn MGA, Morte ESB, Santos DCMB, Castro JT, Barbosa JTP, Teixeira AP, Fernandes AP, Welz B, Santos WPC, Santos EBG, *et al.* 2008. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods-A-Review. *Applied Spectroscopy Reviews*. 43(2):67-92. DOI:10.1080/05704920701723980.
- Lo Dico GM, Cammilleri G, Macaluso A, Vella A, Giangrosso G, Vazzana M, Ferrantelli V. 2015. Simultaneous determination of As, Cu, Cr, Se, Sn, Cd, Sb and Pb levels in infant formulas by ICP-MS after microwave-assisted digestion: method validation. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*. 5(6):328. DOI:10.4172/2161-0525.1000328.
- Lutfullah G, Khan AA, Amjad AY, Perveen S. 2014. Comparative study of heavy metals in dried and fluid milk in peshawar by atomic absorption spectrophotometry. *Scientific World Journal*. 2014:1-5. DOI: 10.1155/2014/715845.
- Machado RC, Amaral CDB, Schiavo D, Nóbrega JA, Nogueira ARA. 2017. Complex samples and spectral interferences in ICP-MS : Evaluation of tandem mass spectrometry for interference-free determination of cadmium, tin and platinum group elements. *Microchemical Journal*. 130:271-275. DOI: 10.1016/j.microc.2016.09.011
- Madrakian T, Ghazizadeh F. 2009. Micelle-mediated extraction and determination of tin in soft drink and water samples. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 20(8):1535-1540. DOI : 10.1590/S0103-50532009000800021.
- Magnusson B, Ornemark U. 2014. The fitness for purpose of analytical methods-A laboratory guide to method validation and related topics, 2nd Edition. [diunduh 2019 May 7]. Tersedia pada www.eurachem.org.

- Magnusson B, Naykki B, Hovind H, Krysell M, Sahlin E. 2017. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. Nordtest Report TR 537 (ed. 4).
- Martino FAR, Sánchez MLF, Medel AS. 2000. Total determination of essential and toxic elements in milk whey by double focusing ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 15(2):163–168.
- Martino FAR, Sánchez MLF, Medel AS. 2001. The potential of double focusing ICP-MS for studying elemental distribution patterns in whole milk, skimmed milk and milk whey of different milks. *Journal of Analytica Chimica Acta*. 442(2):191–200.
- Meshref A, Moselhy W, Hassan NEY. 2014. Heavy metals and trace elements levels in milk and milk products. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 8(4):381-388. DOI: 10.1007/s11694-014-9203-6.
- Murugesan S, Oulkar D. 2019. Thermoscientific application note : Trace elemental quantification, including heavy metals in wheat, using ICP-MS.
- Najarnezhad V, G Jalilzadeh-Amin, E Anassori, V Zeinali. 2015. Lead and cadmium in raw buffalo, cow and ewe milk from west Azerbaijan, Iran. *Journal of Food Additives and Contaminants : Part B Surveillance*. 8(2):123-7. DOI: 10.1080/19393210.2015.1007396.
- Nejatolahi M, Mehrjo F, Sheykhi A, Bineshpor M. 2014. Lead concentrations in raw cows' milk from fars province of Iran. *American Journal of Food and Nutrition*. 2(5):92-94. DOI :10.12691/ajfn-2-5-3.
- Nishimura T, Nagaoka MH, Sakakibara N, Abe T, Maekawa Y, Maitani T. 2010. Determination method for total arsenic and partial digestion method with nitric acid for inorganica arsenic speciation in several varieties of rice. *Journal of Food Hygiene and Safety Science*. 51(4):178-181. DOI: 10.3358/shokueishi.51.178
- Oliveira TM, Peres JA, Felsner ML, Justi KC. 2017. Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry (GF-AAS) with electrothermal atomization sampling from slurries. *Journal of Food Chemistry*. 229:721-725. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.143>.
- Parikh Y, Lang H, Mahmoud S, Lallo J. 2015. Spectroscopy e-book : Sample preparation method for mercury analysis in reagent chemicals by ICP-OES. Vol. 30. MJH Life Sciences. New Jersey.
- Patrick L. 2006. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative Medicine Review*. 11(2):114-127.
- Perring L, Basic-Dvorzak M. 2002. Determination of total tin in canned food using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. *Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 374(2):235-243. DOI: 10.1007/s00216-002-1420-x.
- Ratnaik RN. 2003. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgraduate Medical Journal*. 79(933):391-396. DOI: 10.1136/pmj.79.933.391.
- [SAC] Singapore Accreditation Council. 2008. A guide on measurement uncertainty in chemical & microbiological analysis, second edition. Technical guide 2. Singapore.



[SAC] Singapore Accreditation Council. 2019. Guidelines on the evaluation and expression of measurement uncertainty, second edition. Technical guide 1. Singapore.

Sager M, McCulloch CR, Schoder D. 2018. Heavy metal content and element analysis of infant formula and milk powder samples purchased on the Tanzanian market : International branded versus black market products. *Journal of Food Chemistry*. 255:365-371. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.02.058.

Sarkar AN, Ravindran GE, Krishnamurthi V. 2013. A brief review on the effect of cadmium toxicity: from cellular to organ level. *International Journal of Biotechnology and Research*. 3(1):17-36.

Silva ALO, Barrocas PRG, Jacob S, Moreira J. 2005. Dietary intake and health effects of selected toxic elements. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17(1):79-93. DOI: 10.1590/S1677-04202005000100007.

Sorbo A, Turco AC, Gregorio MD, Ciaralli L. 2014. Development and validation of an analytical method for the determination of arsenic, cadmium and lead content in powdered infant formula by means of quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Food Control*. 44:159-165. DOI:10.1016/j.foodcont.2014.03.049.

Starska K, Wojciechowska-Mazurek M, Mania M, Brulińska-Ostrowska E, Biernat U, Karłowski K. 2011. Noxious Elements in Milk and Milk Products in Poland. *Polish Journal of Environmental Studies*. 20(4):1043-1051.

Sunanti ST, Samin, Supriyanto C. 2013. Penetapan nilai kandidat *in-house reference material* (RM) ZrO₂. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. 14(1):23-36.

Tajkarimi M, Faghih MA, Poursoltani H, Salahnejhad A, Motallebi A, Mahdavi H. 2008. Lead residue levels in raw milk from different regions of Iran. *Journal of Food Control*. 19(5):495-498. DOI : 10.1016/j.foodcont.2007.05.015.

Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. 2012. Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. 101:133-164. DOI : 10.1007/978-3-7643-8340-4_6.

Thomas R. 2013. Practical Guide to ICP-MS A Tutorial for Beginner. Third Edition. New York (NY): CRC Pr.

Trandafir I, Nour V, Ionica ME. 2012. Determination of tin in canned foods by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Polish Journal of Environmental Studies*. 21(3):749-754.

Tripathi RM, Raghunath R, Sastry VN, Krishnamoorthy TM. 1999. Daily intake of heavy metals by infants through milk and milk products. *Science of the Total Environment*. 227(2-3):229-235. DOI: 10.1016/s0048-9697(99)00018-2.

Vanhaecke F, Vanhoe H, Dams R, Vandecasteele C. 1992. The use of internal standards in ICP-MS. *Talanta*. 39(7):737-742. DOI : 10.1016/0039-9140(92)80088-u.

Vaziri ND. 2008. Mechanisms of lead-induced hypertension and cardiovascular disease. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 295(2):454-465. DOI: 10.1152/ajpheart.00158.2008.

Wilschefski SC, Baxter MR. 2019. Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects. *The Clinical Biochemist Reviews*. 40(3): 115-133. <https://doi.org/10.33176/AACB-19-00024>.

LAMPIRAN

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 1 Hasil uji statistik untuk reproduibilitas intralab

Uji Normalitas

| | | Statistic | Std. Error | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-------------|---------|--|
| Hak Cipta Dilindungi Undang-undang 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber : a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University. 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University. | Minggu | | | | |
| | Analit Pb Minggu 1 | Mean | 19.7507 | 1.13937 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 14.8484 | |
| | | | Upper Bound | 24.6530 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 19.0170 | | |
| | | Variance | 3.894 | | |
| | | Std. Deviation | 1.97344 | | |
| | | Minimum | 18.25 | | |
| | | Maximum | 21.99 | | |
| | | Range | 3.74 | | |
| | | Interquartile Range | . | | |
| | | Skewness | 1.442 | 1.225 | |
| | | Kurtosis | . | . | |
| | Minggu 2 | Mean | 18.1186 | .31171 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 16.7774 | |
| | | | Upper Bound | 19.4597 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 18.1858 | | |
| | | Variance | .291 | | |
| | | Std. Deviation | .53990 | | |
| | | Minimum | 17.55 | | |
| | | Maximum | 18.62 | | |
| | | Range | 1.07 | | |
| | | Interquartile Range | . | | |
| | | Skewness | -.552 | 1.225 | |
| | | Kurtosis | . | . | |
| | Minggu 3 | Mean | 20.1893 | .19752 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 19.3395 | |
| | | | Upper Bound | 21.0392 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 20.1622 | | |
| | | Variance | .117 | | |
| Std. Deviation | | .34211 | | | |
| Minimum | | 19.86 | | | |
| Maximum | | 20.54 | | | |
| Range | | .68 | | | |
| Interquartile Range | | . | | | |
| Skewness | | .355 | 1.225 | | |
| Kurtosis | | . | . | | |

| | Minggu | Statistic | Std. Error | | |
|---------------------|----------|----------------------------------|-------------|---------|--|
| Analit Cd | Minggu 1 | Mean | 20.3713 | .03425 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 20.2240 | |
| | | | Upper Bound | 20.5187 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 20.3730 | | |
| | | Variance | .004 | | |
| | | Std. Deviation | .05932 | | |
| | | Minimum | 20.31 | | |
| | | Maximum | 20.43 | | |
| | | Range | .12 | | |
| | | Interquartile Range | . | | |
| | | Skewness | -.126 | 1.225 | |
| | | Kurtosis | . | . | |
| | Minggu 2 | Mean | 21.1087 | .39224 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 19.4210 | |
| | | | Upper Bound | 22.7963 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 21.2300 | | |
| | | Variance | .462 | | |
| | | Std. Deviation | .67938 | | |
| | | Minimum | 20.38 | | |
| | | Maximum | 21.72 | | |
| | | Range | 1.34 | | |
| | | Interquartile Range | . | | |
| | | Skewness | -.778 | 1.225 | |
| | | Kurtosis | . | . | |
| | Minggu 3 | Mean | 20.4945 | .99943 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 16.1943 | |
| | | | Upper Bound | 24.7947 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 20.4994 | | |
| | | Variance | 2.997 | | |
| | | Std. Deviation | 1.73106 | | |
| Minimum | | 18.76 | | | |
| Maximum | | 22.22 | | | |
| Range | | 3.46 | | | |
| Interquartile Range | | . | | | |
| Skewness | | -.013 | 1.225 | | |
| Kurtosis | | . | . | | |

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

| Minggu | | Statistic | Std. Error |
|-----------|----------------------------------|-------------|------------|
| Analit Hg | Minggu 1 | Mean | 21.4068 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 20.1282 |
| | | Upper Bound | 22.6854 |
| | 5% Trimmed Mean | . | |
| | Median | 21.2345 | |
| | Variance | .265 | |
| | Std. Deviation | .51471 | |
| | Minimum | 21.00 | |
| | Maximum | 21.99 | |
| | Range | .99 | |
| | Interquartile Range | . | |
| | Skewness | 1.338 | 1.225 |
| | Kurtosis | . | . |
| Minggu 2 | Minggu 2 | Mean | 19.8265 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 19.3797 |
| | | Upper Bound | 20.2733 |
| | 5% Trimmed Mean | . | |
| | Median | 19.7423 | |
| | Variance | .032 | |
| | Std. Deviation | .17985 | |
| | Minimum | 19.70 | |
| | Maximum | 20.03 | |
| | Range | .33 | |
| | Interquartile Range | . | |
| | Skewness | 1.645 | 1.225 |
| | Kurtosis | . | . |
| Minggu 3 | Minggu 3 | Mean | 20.5391 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 19.9312 |
| | | Upper Bound | 21.1470 |
| | 5% Trimmed Mean | . | |
| | Median | 20.3988 | |
| | Variance | .060 | |
| | Std. Deviation | .24471 | |
| | Minimum | 20.40 | |
| | Maximum | 20.82 | |
| | Range | .42 | |
| | Interquartile Range | . | |
| | Skewness | 1.732 | 1.225 |
| | Kurtosis | . | . |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

| | | Minggu | | Statistic | Std. Error |
|---------------------|----------|----------------------------------|-------------|-----------|------------|
| Analit As | Minggu 1 | Mean | | 20.9497 | .40198 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 19.2201 | |
| | | | Upper Bound | 22.6793 | |
| | | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | | Median | | 21.2028 | |
| | | Variance | | .485 | |
| | | Std. Deviation | | .69625 | |
| | | Minimum | | 20.16 | |
| | | Maximum | | 21.48 | |
| | | Range | | 1.32 | |
| | | Interquartile Range | | . | |
| | | Skewness | | -1.420 | 1.225 |
| | | Kurtosis | | . | . |
| | Minggu 2 | Mean | | 19.1288 | .61713 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 16.4735 | |
| | | | Upper Bound | 21.7841 | |
| | | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | | Median | | 19.1823 | |
| | | Variance | | 1.143 | |
| | | Std. Deviation | | 1.06890 | |
| | | Minimum | | 18.03 | |
| | | Maximum | | 20.17 | |
| | | Range | | 2.14 | |
| | | Interquartile Range | | . | |
| | | Skewness | | -.225 | 1.225 |
| | | Kurtosis | | . | . |
| | Minggu 3 | Mean | | 20.7253 | 1.09744 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 16.0034 | |
| | | | Upper Bound | 25.4472 | |
| | | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | | Median | | 21.5098 | |
| | | Variance | | 3.613 | |
| | | Std. Deviation | | 1.90081 | |
| Minimum | | 18.56 | | | |
| Maximum | | 22.11 | | | |
| Range | | 3.55 | | | |
| Interquartile Range | | . | | | |
| Skewness | | -1.541 | 1.225 | | |
| Kurtosis | | . | . | | |

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

| | Minggu | | Statistic | Std. Error | |
|----------------------------------|-------------|----------------------------------|-------------|------------|------------|
| Analit Sn | Minggu 1 | Mean | 10471.6398 | 135.55925 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 9888.3754 | |
| | | | Upper Bound | 11054.9042 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 10500.1975 | | |
| | | Variance | 55128.933 | | |
| | | Std. Deviation | 234.79551 | | |
| | | Minimum | 10223.87 | | |
| | | Maximum | 10690.85 | | |
| | | Range | 466.98 | | |
| | | Interquartile Range | . | | |
| | | Skewness | -.539 | 1.225 | |
| | | Kurtosis | . | . | |
| | | Minggu 2 | Minggu 2 | Mean | 10092.3843 |
| 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | | | 9507.2213 | |
| | Upper Bound | | | 10677.5474 | |
| 5% Trimmed Mean | . | | | | |
| Median | 10198.4777 | | | | |
| Variance | 55488.438 | | | | |
| Std. Deviation | 235.55984 | | | | |
| Minimum | 9822.44 | | | | |
| Maximum | 10256.24 | | | | |
| Range | 433.80 | | | | |
| Interquartile Range | . | | | | |
| Skewness | -1.616 | | | 1.225 | |
| Kurtosis | . | | | . | |
| Minggu 3 | Minggu 3 | | | Mean | 9982.5274 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 9448.3490 | |
| | | | Upper Bound | 10516.7058 | |
| | | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | | Median | 10036.8892 | | |
| | | Variance | 46240.375 | | |
| | | Std. Deviation | 215.03575 | | |
| | | Minimum | 9745.53 | | |
| | | Maximum | 10165.17 | | |
| | | Range | 419.64 | | |
| | | Interquartile Range | . | | |
| | | Skewness | -1.065 | 1.225 | |
| | | Kurtosis | . | . | |

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

| Tests of Normality | | | | | | | |
|--------------------|----------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Minggu | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Analit Pb | Minggu 1 | .312 | 3 | . | .896 | 3 | .374 |
| | Minggu 2 | .216 | 3 | . | .988 | 3 | .794 |
| | Minggu 3 | .198 | 3 | . | .995 | 3 | .869 |
| Analit Cd | Minggu 1 | .178 | 3 | . | .999 | 3 | .954 |
| | Minggu 2 | .238 | 3 | . | .976 | 3 | .703 |
| | Minggu 3 | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | .995 |
| Analit Hg | Minggu 1 | .298 | 3 | . | .916 | 3 | .438 |
| | Minggu 2 | .347 | 3 | . | .836 | 3 | .203 |
| | Minggu 3 | .384 | 3 | . | .753 | 3 | .007 |
| Analit As | Minggu 1 | .309 | 3 | . | .901 | 3 | .388 |
| | Minggu 2 | .187 | 3 | . | .998 | 3 | .917 |
| | Minggu 3 | .327 | 3 | . | .872 | 3 | .302 |
| Analit Sn | Minggu 1 | .215 | 3 | . | .989 | 3 | .798 |
| | Minggu 2 | .340 | 3 | . | .848 | 3 | .235 |
| | Minggu 3 | .266 | 3 | . | .952 | 3 | .578 |

a. Lilliefors Significance Correction

One-Way ANOVA

| ANOVA | | | | | | |
|-----------|-----------------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Analit Pb | <i>Between Groups</i> | 7.144 | 2 | 3.572 | 2.490 | .163 |
| | <i>Within Groups</i> | 8.606 | 6 | 1.434 | | |
| | Total | 15.750 | 8 | | | |
| Analit Cd | <i>Between Groups</i> | .936 | 2 | .468 | .406 | .684 |
| | <i>Within Groups</i> | 6.923 | 6 | 1.154 | | |
| | Total | 7.859 | 8 | | | |
| Analit As | <i>Between Groups</i> | 5.915 | 2 | 2.957 | 1.693 | .261 |
| | <i>Within Groups</i> | 10.481 | 6 | 1.747 | | |
| | Total | 16.395 | 8 | | | |
| Analit Sn | <i>Between Groups</i> | 395134.195 | 2 | 197567.097 | 3.779 | .087 |
| | <i>Within Groups</i> | 313715.492 | 6 | 52285.915 | | |
| | Total | 708849.686 | 8 | | | |

| <i>Multiple Comparisons</i> | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------|------------|------------|------------------------------|-------------------|-------------|--------------------------------|--------------------|
| <i>Dependent Variable</i> | | (I) Minggu | (J) Minggu | <i>Mean Difference (I-J)</i> | <i>Std. Error</i> | <i>Sig.</i> | <i>95% Confidence Interval</i> | |
| | | | | | | | <i>Lower Bound</i> | <i>Upper Bound</i> |
| Analit Pb | Tukey HSD | Minggu 1 | Minggu 2 | 1.63213 | .97787 | .291 | -1.3682 | 4.6325 |
| | | | Minggu 3 | -.43863 | .97787 | .897 | -3.4390 | 2.5617 |
| | | Minggu 2 | Minggu 1 | -1.63213 | .97787 | .291 | -4.6325 | 1.3682 |
| | | | Minggu 3 | -2.07077 | .97787 | .166 | -5.0711 | .9296 |
| | | Minggu 3 | Minggu 1 | .43863 | .97787 | .897 | -2.5617 | 3.4390 |
| | | | Minggu 2 | 2.07077 | .97787 | .166 | -.9296 | 5.0711 |
| Analit Cd | Tukey HSD | Minggu 1 | Minggu 2 | -.73733 | .87707 | .694 | -3.4284 | 1.9538 |
| | | | Minggu 3 | -.12317 | .87707 | .989 | -2.8143 | 2.5679 |
| | | Minggu 2 | Minggu 1 | .73733 | .87707 | .694 | -1.9538 | 3.4284 |
| | | | Minggu 3 | .61417 | .87707 | .772 | -2.0769 | 3.3053 |
| | | Minggu 3 | Minggu 1 | .12317 | .87707 | .989 | -2.5679 | 2.8143 |
| | | | Minggu 2 | -.61417 | .87707 | .772 | -3.3053 | 2.0769 |
| Analit As | Tukey HSD | Minggu 1 | Minggu 2 | 1.82087 | 1.07914 | .284 | -1.4902 | 5.1320 |
| | | | Minggu 3 | .22440 | 1.07914 | .977 | -3.0867 | 3.5355 |
| | | Minggu 2 | Minggu 1 | -1.82087 | 1.07914 | .284 | -5.1320 | 1.4902 |
| | | | Minggu 3 | -1.59647 | 1.07914 | .364 | -4.9076 | 1.7146 |
| | | Minggu 3 | Minggu 1 | -.22440 | 1.07914 | .977 | -3.5355 | 3.0867 |
| | | | Minggu 2 | 1.59647 | 1.07914 | .364 | -1.7146 | 4.9076 |
| Analit Sn | Tukey HSD | Minggu 1 | Minggu 2 | 379.25547 | 186.70104 | .185 | -193.5946 | 952.1055 |
| | | | Minggu 3 | 489.11240 | 186.70104 | .088 | -83.7376 | 1061.9624 |
| | | Minggu 2 | Minggu 1 | -379.25547 | 186.70104 | .185 | -952.1055 | 193.5946 |
| | | | Minggu 3 | 109.85693 | 186.70104 | .831 | -462.9931 | 682.7070 |
| | | Minggu 3 | Minggu 1 | -489.11240 | 186.70104 | .088 | -1061.9624 | 83.7376 |
| | | | Minggu 2 | -109.85693 | 186.70104 | .831 | -682.7070 | 462.9931 |

Hak cipta dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

| Analit Pb | | | |
|---------------------------------------------------------------|----------|---|----------------------------|
| | | | Subset for alpha = 0.05 |
| | Minggu | N | 1 |
| Tukey HSD^a | Minggu 2 | 3 | 18.1186 |
| | Minggu 1 | 3 | 19.7507 |
| | Minggu 3 | 3 | 20.1893 |
| | Sig. | | .166 |
| Duncan^a | Minggu 2 | 3 | 18.1186 |
| | Minggu 1 | 3 | 19.7507 |
| | Minggu 3 | 3 | 20.1893 |
| | Sig. | | .087 |
| <i>Means for groups in homogeneous subsets are displayed.</i> | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000. | | | |

| Analit Cd | | | |
|---------------------------------------------------------------|----------|---|----------------------------|
| | | | Subset for alpha = 0.05 |
| | Minggu | N | 1 |
| Tukey HSD^a | Minggu 1 | 3 | 20.3713 |
| | Minggu 3 | 3 | 20.4945 |
| | Minggu 2 | 3 | 21.1087 |
| | Sig. | | .694 |
| Duncan^a | Minggu 1 | 3 | 20.3713 |
| | Minggu 3 | 3 | 20.4945 |
| | Minggu 2 | 3 | 21.1087 |
| | Sig. | | .447 |
| <i>Means for groups in homogeneous subsets are displayed.</i> | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000. | | | |

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

| Analit As | | | |
|---------------------------------------------------------------|----------|---|-------------------------|
| | Minggu | N | Subset for alpha = 0.05 |
| | | | 1 |
| Tukey HSD ^a | Minggu 2 | 3 | 19.1288 |
| | Minggu 3 | 3 | 20.7253 |
| | Minggu 1 | 3 | 20.9497 |
| | Sig. | | .284 |
| Duncan ^a | Minggu 2 | 3 | 19.1288 |
| | Minggu 3 | 3 | 20.7253 |
| | Minggu 1 | 3 | 20.9497 |
| | Sig. | | .154 |
| <i>Means for groups in homogeneous subsets are displayed.</i> | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000. | | | |

| Analit Sn | | | | |
|---------------------------------------------------------------|----------|---|-------------------------|------------|
| | Minggu | N | Subset for alpha = 0.05 | |
| | | | 1 | 2 |
| Tukey HSD ^a | Minggu 3 | 3 | 9982.5274 | |
| | Minggu 2 | 3 | 10092.3843 | |
| | Minggu 1 | 3 | 10471.6398 | |
| | Sig. | | .088 | |
| Duncan ^a | Minggu 3 | 3 | 9982.5274 | |
| | Minggu 2 | 3 | 10092.3843 | 10092.3843 |
| | Minggu 1 | 3 | | 10471.6398 |
| | Sig. | | .578 | .088 |
| <i>Means for groups in homogeneous subsets are displayed.</i> | | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000. | | | | |

Kruskal-Wallis Test

| Ranks | | | |
|-----------|----------|---|-----------|
| | Minggu | N | Mean Rank |
| Analit Hg | Minggu 1 | 3 | 8.00 |
| | Minggu 2 | 3 | 2.00 |
| | Minggu 3 | 3 | 5.00 |
| | Total | 9 | |

| <i>Test Statistics^{a,b}</i> | |
|--------------------------------------|-----------|
| | Analit Hg |
| <i>Chi-Square</i> | 7.200 |
| <i>df</i> | 2 |
| <i>Asymp. Sig.</i> | .027 |
| a. <i>Kruskal Wallis Test</i> | |
| b. <i>Grouping Variable:</i> | |
| Minggu | |

Mann-Whitney Test

| <i>Ranks</i> | | | | |
|--------------|----------|---|-----------|--------------|
| | Minggu | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Analit Hg | Minggu 1 | 3 | 5.00 | 15.00 |
| | Minggu 2 | 3 | 2.00 | 6.00 |
| | Total | 6 | | |

| <i>Test Statistics^a</i> | |
|---------------------------------------|-------------------|
| | Analit Hg |
| <i>Mann-Whitney U</i> | .000 |
| <i>Wilcoxon W</i> | 6.000 |
| <i>Z</i> | -1.964 |
| <i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i> | .050 |
| <i>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</i> | .100 ^b |
| a. <i>Grouping Variable:</i> Minggu | |
| b. <i>Not corrected for ties.</i> | |

| <i>Ranks</i> | | | | |
|--------------|----------|---|-----------|--------------|
| | Minggu | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Analit Hg | Minggu 1 | 3 | 5.00 | 15.00 |
| | Minggu 3 | 3 | 2.00 | 6.00 |
| | Total | 6 | | |



| Test Statistics^a | |
|---------------------------------------|-------------------|
| | Analit Hg |
| <i>Mann-Whitney U</i> | .000 |
| <i>Wilcoxon W</i> | 6.000 |
| <i>Z</i> | -1.964 |
| <i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i> | .050 |
| <i>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</i> | .100 ^b |
| a. <i>Grouping Variable: Minggu</i> | |
| b. <i>Not corrected for ties.</i> | |

| Ranks | | | | |
|--------------|----------|---|-----------|--------------|
| | Minggu | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Analit Hg | Minggu 2 | 3 | 2.00 | 6.00 |
| | Minggu 3 | 3 | 5.00 | 15.00 |
| | Total | 6 | | |

| Test Statistics^a | |
|---------------------------------------|-------------------|
| | Analit Hg |
| <i>Mann-Whitney U</i> | .000 |
| <i>Wilcoxon W</i> | 6.000 |
| <i>Z</i> | -1.964 |
| <i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i> | .050 |
| <i>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</i> | .100 ^b |
| a. <i>Grouping Variable: Minggu</i> | |
| b. <i>Not corrected for ties.</i> | |

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Hasil uji t untuk ketahanan metode (*robustness*)

Tabel 17.1 Hasil uji t (Pb)

| | Variable 1 | Variable 2 |
|-------------------------------------|------------|------------|
| <i>Mean</i> | 19,751 | 19,368 |
| <i>Variance</i> | 3,894 | 1,239 |
| <i>Observations</i> | 3 | 3 |
| <i>Hypothesized Mean Difference</i> | 0 | |
| <i>df</i> | 3 | |
| <i>t Stat</i> | 0,292 | |
| <i>P(T<=t) one-tail</i> | 0,395 | |
| <i>t Critical one-tail</i> | 2,353 | |
| <i>P(T<=t) two-tail</i> | 0,789 | |
| <i>t Critical two-tail</i> | 3,182 | |

Tabel 17.2 Hasil uji t (Cd)

| | Variable 1 | Variable 2 |
|-------------------------------------|------------|------------|
| <i>Mean</i> | 22,096 | 22,462 |
| <i>Variance</i> | 0,361 | 0,490 |
| <i>Observations</i> | 3 | 3 |
| <i>Hypothesized Mean Difference</i> | 0 | |
| <i>df</i> | 4 | |
| <i>t Stat</i> | -0,688 | |
| <i>P(T<=t) one-tail</i> | 0,265 | |
| <i>t Critical one-tail</i> | 2,132 | |
| <i>P(T<=t) two-tail</i> | 0,529 | |
| <i>t Critical two-tail</i> | 2,776 | |

Tabel 17.3 Hasil uji t (Hg)

| | Variable 1 | Variable 2 |
|-------------------------------------|------------|------------|
| <i>Mean</i> | 21,407 | 20,657 |
| <i>Variance</i> | 0,265 | 0,380 |
| <i>Observations</i> | 3 | 3 |
| <i>Hypothesized Mean Difference</i> | 0 | |
| <i>df</i> | 4 | |
| <i>t Stat</i> | 1,617 | |
| <i>P(T<=t) one-tail</i> | 0,091 | |
| <i>t Critical one-tail</i> | 2,132 | |
| <i>P(T<=t) two-tail</i> | 0,181 | |
| <i>t Critical two-tail</i> | 2,776 | |

Tabel 17.4 Hasil uji t (As)

| | <i>Variable 1</i> | <i>Variable 2</i> |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|
| <i>Mean</i> | 20,950 | 21,473 |
| <i>Variance</i> | 0,485 | 1,590 |
| <i>Observations</i> | 3 | 3 |
| <i>Hypothesized Mean Difference</i> | 0 | |
| <i>df</i> | 3 | |
| <i>t Stat</i> | -0,629 | |
| <i>P(T<=t) one-tail</i> | 0,287 | |
| <i>t Critical one-tail</i> | 2,353 | |
| <i>P(T<=t) two-tail</i> | 0,574 | |
| <i>t Critical two-tail</i> | 3,182 | |

Tabel 18.5 Hasil uji t (Sn)

| | <i>Variable 1</i> | <i>Variable 2</i> |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|
| <i>Mean</i> | 9982,527 | 10009,753 |
| <i>Variance</i> | 46240,366 | 1168,433 |
| <i>Observations</i> | 3 | 3 |
| <i>Hypothesized Mean Difference</i> | 0 | |
| <i>df</i> | 2 | |
| <i>t Stat</i> | -0,217 | |
| <i>P(T<=t) one-tail</i> | 0,424 | |
| <i>t Critical one-tail</i> | 2,920 | |
| <i>P(T<=t) two-tail</i> | 0,849 | |
| <i>t Critical two-tail</i> | 4,303 | |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di kota Ngawi pada tanggal 28 Desember 1982 sebagai anak pertama dari pasangan Alm. Bapak Purjanto Heri Wibowo dan Ibu Farida Setyorini. Pendidikan sarjana ditempuh di Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, dan lulus pada tahun 2006. Pada tahun 2018 penulis diterima sebagai mahasiswa program magister (S-2) di Program Studi Ilmu Pangan pada Sekolah Pascasarjana IPB University dengan beasiswa dari Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia dan menamatkannya pada tahun 2021.

Penulis bekerja sebagai staf di Laboratorium Kimia Pangan dan Air, Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM RI di Jakarta sejak tahun 2007 hingga sekarang. Selama mengikuti program S-2, penulis pernah terpilih menjadi juara 1 pada Graduate Student Research Paper Competition (GSRPC). Karya ilmiah berjudul Validasi Metode Analisis Penetapan Simultan Kadar Pb, Cd, Hg, As, Sn dalam susu formula bayi dengan ICP-MS telah dipublikasi di jurnal Food Research. Karya ilmiah tersebut merupakan bagian dari program S-2 penulis.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.