

**ANALISIS KADAR KALSIUM DARI DARAH TIKUS BETINA
(*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI SARI KEDELAI YANG
DIFORTIFIKASI KALSIUM DARI CANGKANG TELUR AYAM RAS
SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

**ANDI REZKIANI BETA
N111 09 270**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**ANALISIS KADAR KALSIUM DARI DARAH TIKUS BETINA
(*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI SARI KEDELAI YANG
DIFORTIFIKASI KALSIUM DARI CANGKANG TELUR AYAM RAS
SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**



**ANDI REZKIANI BETA
N111 09 270**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

PERSETUJUAN

**ANALISIS KADAR KALSIUM DARI DARAH TIKUS BETINA
(*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI SARI KEDELAI YANG
DIFORTIFIKASI KALSIUM DARI CANGKANG TELUR AYAM RAS
SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

**ANDI REZKIANI BETA
N111 09 270**



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

**Prof. Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt
NIP. 19491018 198003 2 001**

**Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt
NIP. 19751117 200012 2 001**

Pada tanggal, 25 Juli 2013

PENGESAHAN

**ANALISIS KADAR KALSIUM DARI DARAH TIKUS BETINA
(*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI SARI KEDELAI YANG
DIFORTIFIKASI KALSIUM DARI CANGKANG TELUR AYAM RAS
SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

Oleh :

**ANDI REZKIANI BETA
N111 09 270**

**Dipertahankan Di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal : 30 Juli 2013**

Panitia Penguji Skripsi :

1. Ketua : Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt
2. Sekretaris : Usmar, S.Si., M.Si., Apt.
3. Ex. Officio : Prof. Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt.
4. Ex. Officio : Yusnita Rifai, M.Pharm., Ph.D., Apt
5. Ex. Officio : Drs. Kus Haryono, M.S., Apt.
6. Anggota : Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., Apt.

Mengetahui :

**Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 30 Juli 2013

Penyusun,

Andi Rezkiani Beta

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur dipanjatkan kepada Allah *swt* karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis mampu merampungkan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Banyak kendala yang penulis hadapi dalam penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt. sebagai pembimbing utama yang telah memberikan arahan dan nasihat-nasihat kepada penulis. Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt sebagai pembimbing pertama dan sumber inspirasi yang tidak pernah bosan dan lelah dalam membagi ilmu dan memberikan solusi-solusi yang sangat bermanfaat bagi penulis, semoga Allah senantiasa memudahkan segala urusan ibu dan keluarga. Bapak Drs. H. Kus Haryono, M.S., Apt sebagai pembimbing kedua yang tetap bersemangat memberikan nasihat – nasihat kepada penulis walaupun dalam keadaan sakit, teriring doa tulus, semoga mendapat tempat yang indah di sisi-Nya.
2. Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt selaku Dekan dan penasehat akademik penulis, Wakil Dekan, serta staf dosen Fakultas Farmasi

Universitas Hasanuddin atas bantuan serta motivasi-motivasi yang diberikan.

3. Kedua orang tua tercinta, ayahanda MS. Dg. Pabeta, SE dan ibunda Andi Asni, SE atas segala pengorbanan materi, kasih sayang, semangat, dan ketulusan hati mendoakan sehingga penulis bisa mencapai tahap ini. Bapak dan Mama adalah orang tua terbaik yang jasanya tidak akan pernah mampu penulis balas hingga akhir hayat.
4. Tante Raja, Tante Normah, Tante Cia, Tante Tini, Nenek Amma, Nenek Alang, kakek, Tante Ria, dan Om Mappa' atas pengorbanan dan bantuan yang tidak pernah henti kepada penulis. Semoga penulis dapat selalu mengukir senyum bahagia di bibir tante, om, nenek, dan kakek.
5. Saudara-saudara penulis (Andi Putera Efendi Beta dan Andi Fitriani) atas dukungan, semangat, canda tawa, dan kasih sayang kalian selama ini. Penulis yakin bahwa kalian akan menjadi adik-adik yang hebat suatu hari nanti. Tetapi ingat, sehebat apapun kalian nanti, tetaplah berbakti kepada mama, bapak, dan keluarga yang telah sangat menyayangi kita selama ini. Mari mengejar mimpi kita masing-masing, sejauh dan sehebat apapun itu.
6. Kanda Ismail, S.Si., Apt, Kanda Muh. Nur Amir, S.Si., Apt, Hendra, Kiky Ucen, Ian, Amma, Yuli, Jabal, Nuri, dan Puthe atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian. Semoga segala urusannya dimudahkan oleh Allah.

7. Andi Risnayanti, sebagai sahabat terdekat dan terbaik penulis atas bantuan, semangat, canda tawa, persahabatan dan kasih sayang yang tulus selama ini. Tidak ada orang yang bisa seperti Risna, terima kasih untuk kasih sayang tulus yang tidak pernah berubah, bahkan ketika penulis berada dalam keadaan yang buruk sekalipun.
8. Teman-teman farmasi angkatan 2009 (Ginkgo '09), terkhusus Yustirahayu B, Subaedah Bahri, dan Sri Hartini Sam untuk kebersamaan yang sangat menyenangkan.
9. Laboran dan kru Laboratorium Kimia Farmasi Ibu Adriana Pidun, kak Dewi Primayanti dan seluruh korps asisten kimia farmasi, terkhusus Kuandi Tandiara Tan, Amelia, dan Kanda Muh. Tri Hidayat, terima kasih telah memberi bantuan atas segala kesulitan yang dihadapi penulis mulai dari awal hingga akhir penelitian.
10. Laboran dan kru Laboratorium Biofarmasi, Kak St. Syamsiah, A.Md dan seluruh korps asisten biofarmasi, terimakasih untuk kebersamaan dan keceriaan yang selalu tercipta sehingga penulis merasa sangat nyaman berada di tengah-tengah kalian.
11. Kepada teman-teman seperjuangan dalam penelitian cangkang telur (Nur Ariany, Dahlia, Ermawati, Nurhidayah), merupakan perjuangan yang berat namun menyenangkan bagi kita. Banyak hal baru yang penulis alami selama bersama kalian dan semoga di tahap selanjutnya kita bisa kembali berjuang bersama, mewujudkan mimpi yang begitu hebat terukir di dalam hati kita masing – masing.

12. Kepada Mapopeye Basran yang selalu bersedia menjadi pendengar setia dan tempat berkeluh-kesah bagi penulis dalam pasang-surut semangat untuk menyelesaikan studi. Terimakasih untuk segalanya. Kebersamaan kita selalu menjadi hal yang berkesan dan penulis rindukan.
13. Kepada saudara Zulkifli Bakri, terimakasih untuk beberapa tahun yang sangat membekas di hati. Kejar asa di jiwa, raih cita di diri, semoga kesuksesan dan kebahagiaan selalu menyertai kita. Terimakasih untuk segala hal yang pernah terlewati.
14. Kepada pihak yang tidak sempat disebut namanya. Semoga Allah membalas semua kebaikan kalian selama ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini sangat jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi terciptanya suatu karya yang lebih bermutu. Akhirnya, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kedepannya.

Makassar, 30 Juli 2013

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian analisis kadar kalsium dari darah tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang diberi sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari cangkang telur ayam ras secara spektrofotometri serapan atom. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar peran sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari cangkang telur ayam ras dapat meningkatkan kadar kalsium dalam darah. Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan menggunakan 4 kelompok hewan coba tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang diberi perlakuan berbeda, yaitu kelompok pemberian kalsium dari cangkang telur ayam ras (K-1), kelompok pemberian sari kedelai (K-2), kelompok pemberian sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari cangkang telur ayam ras (K-3), dan kelompok kontrol yang diberi air suling (K-4). Sampel berupa serum sebanyak 0,1 ml dianalisis menggunakan alat spektrofotometer serapan atom Perkin Elmer® PinAAcle 900T dengan metode atomisasi menggunakan nyala (*flame*). Kalsium dari cangkang telur ayam ras, sari kedelai, sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari cangkang telur ayam ras, dan air suling dapat meningkatkan kadar kalsium dalam darah tikus betina (*Rattus norvegicus*) secara berturut-turut sebesar 2,53%; 5,69%; 3,77%; dan 1,58%.

ABSTRACT

The research analysis of blood calcium levels in female rats (*Rattus norvegicus*) which were given soymilk-fortified calcium from the chicken egg shell using atomic absorption spectrophotometry has been done. This research aimed to determine effect of soymilk-fortified calcium of shell eggs may increase calcium levels in the blood. This research was conducted for 2 months using 4 groups of female rats (*Rattus norvegicus*) which were given different treatments; namely the provision of calcium from egg shells (K-1), soymilk (K-2), soymilk fortified calcium from chicken eggshell (K-3), and distilled water (K-4). 0,1 ml of serum were analyzed using atomic absorption spectrophotometer Perkin Elmer® PinAAcle 900T with atomization method using flame. Calcium from the shells of eggs, soymilk, soymilk-fortified calcium from the egg shell, and distilled water increased calcium levels in the blood of female rats (*Rattus norvegicus*) respectively of 2,53%, 5,69% ; 3,77 % and 1,58 %.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II. 1 Uraian Tanaman	4
II. 1. 1 Klasifikasi	4
II. 1. 2 Nama Daerah	4
II. 1. 3 Morfologi Tanaman	4
II. 1. 4 Kandungan	5
II. 2 Kalsium	7
II. 2. 1 Kalsium Sebagai Mineral Makro	7
II. 2. 2 Metabolisme Kalsium	7

II. 2. 3 Kebutuhan Kalsium Manusia	9
II. 2. 4 Peran Kalsium dalam Darah	18
II. 2. 5 Sumber Kalsium	18
II. 3 Cangkang Telur	19
II. 4 Spektrofotometri Serapan Atom	20
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	29
III. 1 Alat dan Bahan	29
III. 2 Metode Kerja	29
III. 2. 1 Preparasi Cangkang Telur	30
III. 2. 2 Penyiapan Sari Kedelai	30
III. 2. 3 Penyiapan Larutan	30
III. 2. 3. 1 Penyiapan Larutan Kalsium	30
III. 2. 3. 2 Penyiapan Sari Kedelai	30
III. 2. 3. 3 Penyiapan Larutan Sari Kedelai yang Difortifikasi Kalsium	30
III. 2. 4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji	31
III. 2. 5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji	31
III. 2. 6 Pengambilan Darah dan Pengumpulan Serum	32
III. 2. 7 Pembuatan Larutan Standar	32
III. 2. 8 Penyiapan Sampel	32
III. 2. 9 Pengukuran Kadar Kalsium	33
III. 3 Pengumpulan Data	33
III. 4 Pembahasan Hasil	33
III. 5 Kesimpulan	33

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
IV. 1 Hasil Penelitian	34
IV. 2 Pembahasan	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
V. 1 Kesimpulan	40
V. 2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Kadar Kalsium Selama Penelitian	34
2. Konsentrasi dan Absorbansi Standar	55
3. Absorbansi Sampel	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram Sederhana SSA	25
2. Grafik Peningkatan Kadar Kalsium Selama Penelitian	34
3. Kacang Kedelai	50
4. Sari Kedelai Kering Hasil Sublimasi di <i>Freeze Dryer</i>	50
5. Cangkang Telur	51
6. Serbuk Kalsium Oksida Hasil Kalsinasi	51
7. <i>Freeze Dryer</i>	52
8. Alat Pentanur	52
9. Rangkaian Alat Spektrofotometer Serapan Atom	52
10. <i>Whole Blood</i>	53
11. Serum	53
12. Deret Larutan Standar	53
13. Sampel yang Siap Dianalisis	53
14. Proses Pengambilan Darah	54
15. Proses Analisis	54
16. Kurva Standar Kalsium	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Pembuatan Sari Kedelai	45
2. Kalsinasi Cangkang Telur	46
3. Perlakuan pada Hewan Uji	47
4. Pengumpulan Serum dan Analisis Kalsium dalam Serum	48
5. Penyiapan Larutan Standar	49
6. Gambar Kacang Kedelai dan Sari Kedelai Kering Hasil Sublimasi di <i>Freeze Dryer</i>	50
7. Gambar Cangkang Telur dan Kalsium Hasil Kalsinasi	51
8. Gambar Alat <i>Freeze Dryer</i> , Pentanur, dan Spektrofotometer Serapan Atom	52
9. Gambar <i>Whole Blood</i> , Serum, Deret Larutan Standar dan Sampel yang Siap Dianalisis	53
10. Gambar Proses Pengambilan Darah dan Proses Analisis	54
11. Absorbansi Standar, Kurva Standar, dan Absorbansi Sampel	55
12. Contoh Perhitungan Dosis, Kadar, dan Persentase Perubahan Kadar	58

BAB I

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan potensi alam. Berbagai macam flora tumbuh subur dan berkembang di Indonesia. Akan tetapi, banyak dari potensi lokal di negara ini yang belum dimanfaatkan secara optimal untuk kebutuhan masyarakat terutama di bidang kesehatan. Sebagian masyarakat lain hanya memanfaatkan tanaman yang ada di Indonesia untuk kebutuhan pangan yaitu memenuhi kebutuhan gizi mereka tanpa tahu potensi lainnya, sebagai contoh adalah kedelai (*Glycine max*) (1).

Secara umum, kedelai mempunyai kandungan vitamin B1, B2, niasin, dan piridoksin . Vitamin lain yang terkandung dalam jumlah cukup banyak ialah vitamin E dan K. Akan tetapi susu kedelai tidak mengandung vitamin B12 dan kandungan mineralnya, terutama kalsium lebih sedikit dibandingkan susu sapi (2).

Selama ini masyarakat menganggap bahwa cangkang telur ayam hanyalah sampah yang tidak dapat dimanfaatkan dan dibuang begitu saja. Masyarakat tidak menyadari bahwa cangkang telur ayam dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sumber kalsium. Cangkang telur tersusun dari mineral 95,1%, protein 3,3% dan air 1,6%. Kalsium cangkang telur terdiri dari CaCO_3 98,4% yang potensial untuk dimanfaatkan sebagai suplemen kalsium (3,4).

Kalsium dibutuhkan oleh tubuh sepanjang hidup, khususnya selama pertumbuhan, kehamilan, dan laktasi. Semua sel membutuhkan kalsium (5). Kalsium yang beredar dalam darah akan menyuplai kebutuhan kalsium bagi sel tubuh. Berbeda dengan natrium, kalium, dan klorida, jumlah kalsium di dalam tubuh sangat tergantung pada banyaknya kalsium yang diserap dari makanan (6). Oleh karena itu, kedelai perlu difortifikasi dengan kalsium, antara lain asupan kalsium yang dapat diperoleh dari cangkang telur ayam ras.

Jumlah kandungan kalsium dalam plasma darah dapat ditentukan antara lain dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Metode spektrofotometri serapan atom berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Cahaya pada panjang gelombang tersebut memiliki energi yang cukup untuk mengubah tingkat energi elektronik suatu atom. Transisi elektron suatu unsur bersifat spesifik. Dengan absorpsi energi, suatu atom pada keadaan dasar dinaikkan tingkat energinya ke tingkat eksitasi. Jika suatu cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada nyala yang mengandung atom-atom netral, maka sebagian cahaya itu akan diserap dan jumlah penyerapan akan berbanding lurus dengan banyaknya atom keadaan dasar yang berada dalam nyala. Hasil beberapa penelitian membuktikan bahwa teknik penetapan kalsium dengan menggunakan alat SSA lebih akurat/teliti dan cepat dibandingkan dengan alat spektrofotometer (7).

Oleh karena itu, alat yang digunakan untuk analisis kadar kalsium pada penelitian ini adalah spektrofotometer serapan atom.

Berdasarkan uraian di atas, maka permasalahan yang timbul adalah apakah sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari cangkang telur ayam ras dapat meningkatkan kadar kalsium dalam darah tikus betina (*Rattus norvegicus*).

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui seberapa besar peran sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari limbah cangkang telur dapat meningkatkan kadar kalsium dalam darah sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan dalam pembuatan suplemen kalsium untuk meningkatkan kadar kalsium dalam darah. Oleh karena itu dilakukan analisis kadar kalsium dari darah tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang diberi sari kedelai yang difortifikasi kalsium dari cangkang telur ayam ras secara Spektrofotometri Serapan Atom.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Kedelai

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (8)

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Leguminales
Famili	: Leguminoceae
Genus	: Glycine
Species	: <i>Glycine max</i> L. Merrill

II.1.2 Nama Daerah (9)

Madura: Kedhele; Makassar: Kadale; Bima: Lawui; Sunda: Kedelai; Jawa: Dele, Dangsul, Dekeman; Lampung: Retak Menjong; Minangkabau: Kacang Rimang.

II.1.3 Morfologi (8,10)

Menurut Van Steenis (10), kedelai merupakan tumbuhan semak dengan tinggi 0,2 sampai 0,6 meter saat berumur 1 tahun. Batang berbentuk persegi dengan rambut coklat dan berwarna hijau keputih-putihan yang menjauhi batang atau mengarah ke bawah. Poros daun

dengan tangkai 6 sampai 19 cm. Anak daun oval atau memanjang, tepi rata, kedua sisi berambut. Mahkota putih dengan panjang 6 sampai 7 mm. Menurut Thomas (8), kedelai memiliki bunga majemuk, berbentuk tandan, berwarna ungu / kuning keputihan. Buah kedelai berbentuk polong, seperti kacang, bertangkai pendek, dan pipih. Buah mudanya berwarna hijau dan tuanya berwarna kuning. Kedelai berbuah polong yang berisi biji-bijinya. Baik kulit luar, buah, polong, maupun batang pohonnya mempunyai bulu-bulu yang kasar berwarna coklat.

II.1.4 Kandungan

Menurut Anonim (9), tiap 100 gram kedelai mengandung 34,9 gram protein; 331 kal kalori; 18,1 gram lemak; 34,8 gram karbohidrat; 8 mg besi; 110 SI vitamin A; 1,07 mg vitamin B1; 7,5 gram air; 585 mg fosfor; dan 227 mg kalsium.

Kedelai mengandung protein, zat besi, kalsium, vitamin A, B1, dan B2 yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis kacang lainnya, juga B12 yang berperan dalam pembentukan sel-sel darah merah. Kandungan lesitin pada kedelai yang mengandung lemak tak jenuh linoleat, oleat dan arakhidonat berfungsi sebagai lipotropikum, yaitu zat yang mencegah penumpukan lemak berlebihan dalam tubuh sedangkan kandungan serat kedelai yang sangat tinggi dapat membantu merangsang metabolisme dan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Zat lain yang terkandung dalam kedelai adalah genistein, daidzein, dan glycitein yang

termasuk isoflavon, yaitu senyawa fitoestrogen yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker atau tumor (8).

Genistein adalah fitoestrogen yaitu bahan kimia yang mirip estrogen pada tumbuhan yang berfungsi sebagai prekursor pada metabolisme manusia. Fitoestrogen ini secara alami menjadi bahan kimia yang dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen untuk melemahkan estrogen atau dengan kata lain sebagai antiestrogen. Fitoestrogen ini tersusun atas komponen-komponen besar senyawa non-steroid yang mirip dengan estrogen (11).

Menurut Hughes *et al* (12), ada tiga kandungan kimia utama tumbuhan kedelai yang memiliki sifat dan fungsi seperti estrogen di dalam tubuh, yaitu lignin (enterolakton dan enterodiol), isoflavon (genistein, daidzein, biochanin A, dan glycitein), dan *coumestan*. Dua zat utama fitoestrogen yang ditemukan pada makanan manusia adalah lignan (enterolakton dan enterodiol) dan isoflavon (daidzein, genistein, dan glycitein).

Isoflavon merupakan bagian dari flavonoid yang banyak ditemukan di dalam kedelai. Kandungan utama isoflavon di kedelai adalah genistein dan daidzein walaupun sebenarnya ada banyak kandungan isoflavon lain, seperti glycitein dan biochanin A. Kedelai mengandung lebih banyak genistein daripada daidzein walaupun rasio ini bervariasi dalam produk kedelai yang berbeda. Isoflavon yang merupakan bagian dari fitoestrogen

ini memiliki fungsi yang penting dalam mekanisme pertahanan diri tumbuhan (12).

II.2 Kalsium

II.2.1 Kalsium sebagai Mineral Makro

Kalsium merupakan mineral yang paling banyak terdapat di dalam tubuh, yaitu 1,5-2% dari berat badan orang dewasa. Di dalam tubuh manusia terdapat kurang lebih 1 kg kalsium (11). Dari jumlah ini, 99% berada di dalam jaringan keras, yaitu tulang dan gigi. Selebihnya kalsium tersebar luas di dalam tubuh. Di dalam cairan ekstraselular dan intraselular kalsium memegang peranan penting dalam mengatur fungsi sel, seperti untuk transmisi saraf, kontraksi otot, penggumpalan darah dan menjaga permeabilitas membran sel. Kalsium juga mengatur pekerjaan hormon-hormon dan faktor pertumbuhan (12).

II.2.2 Metabolisme Kalsium

Pada keadaan normal, kalsium dalam serum berjumlah 9-11 mg/dl atau 4,5-5,5 meq/l, ditemukan terutama dalam dua bentuk. Sekitar sebagian dari jumlahnya beredar sebagai ion bebas (Ca^{2+}) yang berperan dalam koagulasi darah, antaran neuromuskular, pemeliharaan fungsi membran, regulasi intrasel dari sekresi oleh kelenjar, dan kontrol atas kontraktilitas otot rangka dan jantung. Kalsium yang tidak berwujud ion, terikat kepada protein yang beredar dan fisiologis tidak berperan (13).

Penting sekali bagi tubuh untuk memelihara kadar normal ion kalsium. Kadar kalsium total dalam serum berubah dengan adanya perubahan kadar protein – protein, baik albumin maupun globulin; akan tetapi kadar ion kalsium tidak dipengaruhi oleh ikatan dengan protein – protein itu. Kadar kalsium dan fosfat mempunyai hubungan timbal balik; jika yang satu meningkat, yang lain menurun (13).

Absorpsi kalsium dari saluran pencernaan akan efisien bila kalsium dalam bentuk yang terlarut, umumnya dalam bentuk ion kalsium (14). Kalsium diabsorpsi dari saluran pencernaan oleh adanya kombinasi antara transpor aktif dan difusi pasif. Transpor aktif distimulasi oleh 1,25-dihidroksivitamin D₃, terutama pada duodenum dan jejunum proksimal. Proses pasif lebih penting pada jejunum distal dan ileum dimana masa transit lebih panjang dan dapat menjadi mekanisme utama pada penyerapan muatan kalsium yang lebih besar yang mensaturasi proses aktif. Kalsium dari sel intestinal bagian apeks diangkut ke bagian basolateral melalui suatu saluran atau *carrier* dan kemudian dipompakan keluar ke cairan tubuh. Transpor kalsium meningkat dengan adanya *calcium-binding protein* (Ca-BP) yang tergantung pada vitamin D di sitosol, yang mengangkut kalsium dari satu kutub ke kutub lainnya sehingga meningkatkan difusi kalsium intraseluler. Secara teori, transpor kalsium transseluler dapat diatur oleh jumlah kalsium yang masuk ke dalam sel, jumlah atau kecepatan kation berpindah dari satu kutub ke kutub lainnya, atau adanya ekstrusi kalsium (15).

II.2.3 Kebutuhan Kalsium Manusia

Angka kecukupan rata-rata sehari untuk kalsium bagi orang Indonesia pada bayi dan anak-anak adalah 300-500 mg, pada remaja dan dewasa berkisar 500-800 mg sedangkan pada ibu hamil dan menyusui berkisar 900-1200 mg (12).

Konsumsi kalsium hendaknya tidak melebihi 2500 mg sehari sebab kelebihan kalsium dapat menimbulkan batu ginjal ataupun gangguan ginjal dan juga dapat menyebabkan konstipasi (12).

Defisiensi kalsium

Ketidakcukupan asupan kalsium, rendahnya absorpsi kalsium dan atau kehilangan kalsium yang berlebihan berkontribusi terhadap defisiensi kalsium. Defisiensi kalsium akan menyebabkan ketidaknormalan pada tulang seperti riketsia dan osteoporosis. Selain itu, defisiensi kalsium juga berhubungan dengan kejadian kejang (tetani), hipertensi, dan obesitas atau berat badan berlebih. Riketsia terjadi pada anak-anak ketika penambahan jumlah kalsium per unit matriks tulang kurang sehingga mineralisasi tulang terganggu. Riketsia biasanya tampak pada pergelangan tangan, mata kaki, dan lutut (16).

Osteoporosis merupakan gangguan yang menyebabkan penurunan secara bertahap jumlah dan kekuatan jaringan tulang. Penurunan tersebut disebabkan terjadinya demineralisasi, yaitu tubuh yang kekurangan kalsium mengambil simpanan kalsium yang ada pada tulang dan gigi (17). Bredbenner *et al.* (18) menyatakan bahwa kerusakan yang terjadi untuk

mempertahankan massa tulang yang cukup mula-mula akan mengarah pada osteopenia yaitu massa tulang rendah. Osteoporosis didiagnosa ketika kehilangan massa dan penurunan kekuatan tulang signifikan sehingga tulang menjadi rapuh dan mudah patah. Osteopenia dan osteoporosis didefinisikan berdasarkan kriteria WHO (*World Health Organization*), dimana densitas massa tulang 0,759 sampai 0,909 g/cm³ disebut osteopenia sedangkan densitas massa tulang di bawah 0,759 g/cm³ disebut osteoporosis (19).

Level ion Ca²⁺ bebas yang rendah dalam darah (hipokalemia) diduga dapat menyebabkan kejang (tetani), yaitu kondisi yang dicirikan oleh kontraksi otot yang gagal untuk melakukan relaksasi, khususnya pada otot pergelangan tangan dan kaki (organ pergerakan). Sirkulasi level vitamin D yang merupakan respon terhadap rendahnya asupan kalsium menyebabkan jalur kalsium terbuka pada membran di sel-sel tertentu (contohnya otot halus dan adiposa). Hal tersebut memiliki konsekuensi terjadinya aktivasi respon spesifik dari berbagai jaringan seperti kontraksi otot halus pada arteri, peningkatan sintesis lemak dan penurunan lipolisis pada jaringan adiposa. Mekanisme tersebut merupakan dampak kurangnya asupan kalsium terhadap berkembangnya hipertensi dan obesitas (20).

Ketersediaan Hayati (Bioavailabilitas) Kalsium

Tidak semua kalsium dalam suatu bahan pangan dapat dimanfaatkan untuk keperluan tubuh. Hal ini bergantung pada

ketersediaan hayatinya (bioavailabilitas). Bioavailabilitas kalsium menunjukkan proporsi kalsium yang tersedia untuk digunakan dalam proses metabolisme terhadap kalsium yang dikonsumsi (21). Semakin tinggi kebutuhan dan semakin rendah persediaan kalsium dalam tubuh akan menyebabkan absorpsi kalsium yang efisien (22).

Kalsium membutuhkan lingkungan yang asam agar dapat mempertahankan kalsium dalam bentuk ionik yang mudah diabsorpsi. Absorpsi terutama terjadi pada bagian atas usus halus dan berkurang di bagian bawah usus halus yang berbatasan dengan usus besar. Dalam aliran darah, kalsium ditransportasikan dalam bentuk ion kalsium bebas atau terikat dengan protein, dimana konsentrasinya diregulasi secara ketat oleh kontrol hormon. Ketika konsentrasi kalsium dalam darah rendah, kelenjar paratiroid akan melepaskan hormon paratiroid. Peran hormon paratiroid dalam peningkatan kalsium darah dilakukan melalui tiga jalur yaitu 1) menstimulasi perombakan kalsium dari tulang, 2) meningkatkan retensi kalsium di ginjal, dan 3) mengaktifkan vitamin D yang kemudian vitamin D dalam bentuk aktif akan merangsang peningkatan reabsorpsi kalsium di ginjal dan meningkatkan absorpsi kalsium di usus. Namun jika konsentrasi kalsium darah meningkat, kelenjar tiroid akan melepaskan kalsitonin yang kemudian akan mengembalikan konsentrasi kalsium ke dalam *range* normal dengan jalan mengurangi perombakan kalsium dari tulang dan meningkatkan ekskresi kalsium di ginjal (18).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi bioavailabilitas kalsium, baik itu faktor pendorong maupun faktor penghambat. Allen (23) mengelompokkan faktor yang mempengaruhi bioavailabilitas kalsium menjadi dua kelompok yaitu faktor komponen makanan dan faktor fisiologis.

Komponen makanan yang mempengaruhi absorpsi kalsium

Berdasarkan Allen (23), komponen makanan yang mempengaruhi bioavailabilitas kalsium meliputi fosfor, protein, komponen tumbuhan (serat dan oksalat), laktosa, dan lemak. Selain itu, Gropper *et al.* (16) menambahkan bahwa keberadaan kation divalen (bervalensi dua) juga dapat mengurangi absorpsi kalsium. Penjelasan dari masing-masing masing-masing faktor yang mempengaruhi bioavailabilitas kalsium adalah sebagai berikut:

Fosfor. Kalsium dan fosfor saling berpengaruh erat dalam proses absorpsi kalsium. Secara teoritis, pengaruh fosfor terhadap absorpsi kalsium terjadi melalui dua jalan yaitu 1) secara langsung mempengaruhi ketersediaan kalsium melalui interaksinya dalam diet, dan 2) secara tidak langsung dimediasi melalui respon hormonal tubuh terhadap kekurangan atau kelebihan fosfor (23). Berdasarkan Linder (24), konsumsi kalsium hendaknya dalam kisaran yang sama dengan konsumsi fosfor walaupun rasio kalsium dengan fosfor 1:1,5 mungkin dapat diterima. Tetapi rasio yang lebih dari 1:2, terutama jika konsumsi kalsium rendah, akan menyebabkan pengaruh negatif seperti demineralisasi tulang.

Protein. Selain fosfor, beberapa penelitian menyebutkan bahwa protein harian berkaitan erat dengan absorpsi kalsium. Hasil penelitian oleh Heaney (25) menjelaskan bahwa peningkatan asupan protein akan meningkatkan ekskresi kalsium di urin dan menyebabkan keseimbangan kalsium negatif. Menurut Broody (26) efek ini disebut *calciuric effect of protein*. Heaney (25) menjelaskan bahwa hal ini disebabkan karena asupan protein yang tinggi akan meningkatkan laju filtrasi glomerulus sehingga resorpsi kalsium di dalam tubulus ginjal akan berkurang, dengan demikian kalsium lebih banyak dibuang ke urin. Menurut Hugges dan Harris (27), pada asupan kalsium harian yang rendah (<800 mg/hari), asupan protein 20% lebih tinggi berasosiasi dengan penurunan jumlah kalsium yang diabsorpsi sebanyak 23%. Heaney (25) menyimpulkan bahwa protein dan kalsium bersifat sinergis terhadap tulang jika keduanya tersedia dalam jumlah yang cukup dalam diet dan bersifat antagonis jika asupan kalsium rendah.

Laktosa. Interaksi laktosa dengan kalsium membentuk kompleks kalsium laktat yang memiliki tingkat absorpsi yang tinggi. Fermentasi laktosa oleh mikroba usus akan menghasilkan asam yang dapat menurunkan pH sehingga absorpsi menjadi lebih optimal. Penelitian oleh Kabayashi *et al* memperlihatkan bahwa hidrolisis laktosa oleh enzim laktase menjadi galaktosa dan glukosa lebih efektif dalam meningkatkan absorpsi kalsium(23).

Faktor fisiologis yang mempengaruhi absorpsi kalsium

Selain komponen makanan, faktor fisiologis yang dapat mempengaruhi absorpsi kalsium adalah status vitamin D, defisiensi kalsium dan fosfor, serta perbedaan kondisi fisiologis dan kebutuhan pada setiap tahap dalam daur kehidupan (23). Tahap dalam daur kehidupan yang dimaksud adalah bayi, anak-anak dan remaja, dewasa, ibu hamil dan menyusui, wanita menopause serta lansia.

Status vitamin D. Vitamin D dalam bentuk aktif atau biasa disebut kalsitriol akan meningkat jika sekresi hormon paratiroid tinggi, asupan kalsium harian rendah, dan dalam kondisi hamil dan menyusui (23). Kalsitriol akan meningkatkan absorpsi kalsium pada mukosa usus dengan cara merangsang produksi protein pengikat kalsium (*CaBP/Calcium binding protein*) (16). Defisiensi vitamin D akan menyebabkan sintesis CaBP lebih lama yaitu sekitar 6 – 8 hari yang kemudian akan menghambat penyerapan kalsium (23). Defisiensi vitamin D jangka panjang akan menyebabkan riketsia pada anak-anak dan osteomalasia pada dewasa sedangkan kelebihan vitamin D akan menyebabkan hiperkalsemia yang dapat menimbulkan kalsifikasi (pengerasan) pada jaringan lunak (kalsinosis) seperti pada ginjal, hati, paru-paru dan pembuluh darah (16).

Defisiensi kalsium. Kebiasaan asupan kalsium harian, baik rendah maupun tinggi dalam jangka panjang akan mempengaruhi efisiensi absorpsi kalsium melalui mekanisme adaptasi. Jika terjadi defisiensi

kalsium, efisiensi absorpsi kalsium akan meningkat dengan jalan meningkatkan transpor kalsium yang dibantu vitamin D. Penelitian pada tikus memperlihatkan peningkatan absorpsi kalsium di duodenum dan ileum berturut-turut yaitu 200% dan 400%. Tingginya absorpsi kalsium di usus disertai peningkatan asupan kalsium harian akan mengurangi demineralisasi tulang dan akan mengembalikan keseimbangan kalsium menjadi positif (23). Namun, jika asupan kalsium tidak ditingkatkan, absorpsi kalsium akan menurun karena jumlah kalsium yang dapat diserap berkurang (22).

Daur kehidupan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Younoszai memperlihatkan bahwa terdapat hubungan linier antara konsumsi dan absorpsi kalsium pada bayi. Pada asupan kalsium yang rendah, efisiensi absorpsi kalsium pada bayi berkurang daripada dewasa. Hal ini disebabkan karena mekanisme adaptasi tubuh terhadap asupan kalsium yang rendah tidak terjadi dan transpor kalsium biasanya hanya terjadi lewat difusi. Beberapa susu formula yang mengandung cukup kalsium dapat diabsorpsi 30%, sedangkan asupan 239 mg/kg/hari kalsium dari susu formula yang mengandung vitamin D dan trigliserida dapat diabsorpsi sebanyak 73% (23).

Kemampuan untuk absorpsi kalsium lebih tinggi pada masa pertumbuhan dan menurun pada proses penuaan. Kebutuhan kalsium pada masa pertumbuhan lebih tinggi karena itu secara alamiah tubuh akan menyerap lebih banyak kalsium. Remaja cenderung menyerap

kalsium lebih banyak daripada orang lanjut usia (22). Linder (24) dan Almatsier (22) menyebutkan bahwa pada dewasa normal absorpsi kalsium berada dalam kisaran 30% - 50%. Namun menurut Bredbenner *et al.* (18), tubuh manusia (dewasa) menyerap sekitar 25% hingga 30% kalsium dari makanan yang dikonsumsi, akan tetapi apabila tubuh membutuhkan kalsium dalam jumlah sangat tinggi seperti pada tahap pertumbuhan, bayi dan ibu hamil, absorpsi meningkat mencapai 75%. Pada wanita menopause, penurunan sekresi hormon estrogen akan menyebabkan demineralisasi tulang (24). Terapi estrogen selama 6 bulan dapat meningkatkan level kalsitriol serum sebesar 40%. Peningkatan kalsitriol serum tersebut meningkatkan absorpsi kalsium sebesar 20% dan reabsorpsi kalsium di ginjal. Absorpsi kalsium pada lansia dengan diet tinggi kalsium (2000 mg/hari) yaitu sekitar 20% sedangkan pada diet rendah kalsium (300 mg/hari), absorpsi kalsium menjadi 40% (23).

Bioavailabilitas berbagai garam kalsium

Bentuk kimia dari kalsium yang ditambahkan dalam produk dapat mempengaruhi bioavailabilitas kalsium (28). Menurut Gropper *et al.* (16), terdapat beberapa bentuk garam kalsium yang biasanya digunakan dalam suplemen dan fortifikasi yaitu kalsium laktat, kalsium sitrat dan kalsium glukonat. Garam kalsium akan bersifat *bioavailable* jika dalam bentuk terlarut (29).

Garam kalsium yang mempunyai sifat kelarutan yang baik, misalnya kalsium glukonat dan kalsium laktat. Kalsium laktat yang tersedia

dalam bentuk pentahidrat ($5\text{H}_2\text{O}$), mengandung 13% kalsium. Garam kalsium ini mempunyai sifat kelarutan dalam air yang tinggi (9,3 g/l), sehingga paling banyak digunakan dalam industri minuman, sedangkan kalsium glukonat memiliki kelarutan sebesar 3,5 g/l (29).

Selanjutnya Muchtadi (30) menjelaskan bahwa trikalsium sitrat memberikan kombinasi yang baik: bentuk yang paling banyak digunakan adalah bentuk tetrahidrat ($4\text{H}_2\text{O}$), dengan kadar kalsium yang cukup tinggi (21%) dan kelarutan yang moderat (0,9 g/l). Sifat kelarutan garam kalsium dalam air sangat dipengaruhi oleh pH (keasaman) larutan, di mana kelarutan garam kalsium akan meningkat dengan meningkatnya keasaman (menurunnya pH). Trikalsium sitrat menunjukkan kelarutan yang lebih baik pada pH lebih rendah dari 4,5. Baker (31) menambahkan bahwa kelompok sumber kalsium organik seperti dari tepung tulang, bentuk dikalsium fosfat, trikalsium fosfat, dan kalsium sulfat memiliki ketersediaan yang tinggi.

Fortifikasi kalsium juga terkadang menggunakan gabungan dari dua garam organik seperti kalsium laktat glukonat, kalsium laktat malat, dan kalsium laktat sitrat. Kalsium laktat glukonat merupakan garam kalsium yang sangat mudah larut dalam air (45 - 50 g/l) (30). Pada suhu 21°C , kelarutan kalsium laktat malat dalam air adalah 115 g/l, sedangkan kelarutan kalsium laktat sitrat sebesar 98 g/l (32).

II.2.4 Peran Kalsium dalam Darah

Kalsium yang berada di dalam darah memiliki peran pada proses pembekuan darah dan juga kontraksi otot.

a. Pembekuan darah

Bila terjadi luka, ion kalsium dalam darah merangsang pembebasan fosfolipida tromboplastin dari platelet darah yang terluka. Tromboplastin ini mengatalisis perubahan protrombin bagian darah normal menjadi trombin kemudian membantu perubahan fibrinogen yang merupakan bagian lain dari darah menjadi fibrin yang merupakan gumpalan darah (33).

b. Kontraksi Otot

Pada waktu otot berkontraksi kalsium berperan dalam interaksi protein di dalam otot, yaitu aktin dan miosin. Bila darah kalsium kurang dari normal, otot tidak bisa mengendur sesudah kontraksi. Tubuh akan kaku dan dapat menimbulkan kejang (12).

II.2.5 Sumber Kalsium

Sumber utama kalsium adalah susu dan produk olahannya, seperti keju, yoghurt, es krim, serta ikan terutama ikan duri halus. Enam studi *Randomized Controlled Trial* pada orang dewasa dan anak-anak yang menggunakan produk olahan susu sebagai sumber utama kalsium, seluruhnya menunjukkan efek positif bermakna yang memiliki paling sedikit efek yang sama kuat dengan suplemen kalsium. Hal ini membuktikan

bahwa susu dan produk olahannya adalah sumber nutrisi yang baik (34). Sereal, kacang-kacangan dan hasil kacang-kacangan, tahu dan tempe, serta sayuran hijau merupakan sumber kalsium yang baik pula (12). Secara umum susu kedelai mempunyai kandungan vitamin B1, B2, niasin, dan piridoksin. Vitamin lain yang terkandung dalam jumlah cukup banyak ialah vitamin E dan K. Akan tetapi susu kedelai tidak mengandung vitamin B12 dan kandungan mineralnya, terutama kalsium lebih sedikit dibandingkan susu sapi (2). Kalsium sangat diperlukan dalam pertumbuhan terutama pada anak. Oleh karena itu, agar kualitas susu kedelai dapat sejajar dengan kualitas susu sapi masih perlu dilakukan fortifikasi mineral.

II.3 Cangkang Telur

Cangkang telur merupakan lapisan luar dari telur yang berfungsi melindungi semua bagian telur dari kerusakan (34). Cangkang telur ayam mengandung 94% kalsium karbonat, 1% kalium fosfat, 1% magnesium karbonat, dan 4% bahan organik sehingga memiliki potensi yang sangat baik sebagai sumber kalsium (35).

Bila dilihat dengan mikroskop maka cangkang telur terdiri dari 4 lapisan yaitu:

1. Lapisan kutikula

Lapisan kutikula merupakan protein transparan yang melapisi permukaan cangkang telur. Lapisan ini melapisi pori-pori pada

cangkang telur, tetapi sifatnya masih dapat dilalui gas sehingga keluarnya uap air dan gas CO₂ masih dapat terjadi.

2. Lapisan busa

Lapisan ini merupakan bagian terbesar dari lapisan cangkang telur. Lapisan ini terdiri dari protein dan lapisan kapur yang terdiri dari kalsium karbonat, kalsium fosfat, magnesium karbonat dan magnesium fosfat.

3. Lapisan mamillary

Lapisan ini merupakan lapisan ketiga dari cangkang telur yang terdiri dari lapisan yang berbentuk kerucut dengan penampang bulat atau lonjong. Lapisan ini sangat tipis dan terdiri dari anyaman protein dan mineral.

4. Lapisan membrana

Merupakan bagian lapisan cangkang telur yang terdalam. Terdiri dari dua lapisan selaput yang menyelubungi seluruh isi telur. Tebalnya lebih kurang 65 mikron.

II.4 Spektrofotometri Serapan Atom (36)

Spektrofotometri serapan atom digunakan untuk analisis kuantitatif unsur-unsur logam dalam jumlah sekelumit (*trace*) dan sangat kelumit (*ultratrace*). Cara analisis ini memberikan kadar total unsur logam dalam suatu sampel dan tidak tergantung pada bentuk molekul dari logam dalam sampel tersebut. Cara ini cocok untuk analisis kelumit logam karena mempunyai kepekaan yang tinggi (batas deteksi kurang dari 1

ppm), pelaksanaannya relatif sederhana, dan interferensinya sedikit. Spektrofotometri serapan atom didasarkan pada penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral dan sinar yang diserap biasanya sinar tampak atau ultraviolet. Atom-atom akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya.

Peralatan SSA

Sistem peralatan spektrofotometer serapan atom meliputi :

1. Sumber sinar

Sumber sinar yang lazim dipakai adalah lampu katoda berongga (*hollow cathode lamp*). Lampu ini terdiri atas tabung kaca tertutup yang mengandung suatu katoda dan anoda. Katoda berbentuk silinder berongga yang terbuat dari logam atau dilapisi dengan logam tertentu. Tabung logam ini diisi dengan gas mulia (neon atau argon) dengan tekanan rendah (10-15 torr). Bila antara anoda dan katoda diberi suatu selisih tegangan yang tinggi, maka katoda akan memancarkan berkas-berkas elektron yang bergerak menuju anoda dengan kecepatan dan energi yang sangat tinggi. Elektron-elektron dengan energi tinggi ini dalam perjalanannya menuju anoda akan bertabrakan dengan gas-gas mulia yang diisikan tadi.

Akibat dari tabrakan – tabrakan ini membuat unsur – unsur gas mulia akan kehilangan elektron dan menjadi ion bermuatan positif. Ion-ion gas mulia yang bermuatan positif ini selanjutnya akan bergerak ke katoda dengan kecepatan dan energi yang tinggi pula. Unsur – unsur

yang akan dianalisis pada katoda akan ditabrak oleh ion-ion positif gas mulia. Akibat tabrakan ini, unsur-unsur akan terlempar ke luar dari permukaan katoda. Atom-atom unsur dari katoda ini kemudian akan mengalami eksitasi ke tingkat energi-energi elektron yang lebih tinggi dan akan memancarkan spektrum pancaran dari unsur yang sama dengan unsur yang akan dianalisis.

2. Tempat sampel

Dalam analisis dengan spektrofotometri serapan atom, sampel yang akan dianalisis harus diuraikan menjadi atom-atom netral yang masih dalam keadaan dasar. Ada berbagai macam alat yang dapat digunakan untuk mengubah suatu sampel menjadi uap atom-atom yaitu : dengan nyala (*flame*) dan dengan tanpa nyala (*flameless*).

a. Nyala (*Flame*)

Nyala digunakan untuk mengubah sampel yang berupa padatan atau cairan menjadi bentuk uap atomnya, dan juga berfungsi untuk atomisasi.

Suhu yang dapat dicapai oleh nyala tergantung pada gas-gas yang digunakan, misalkan untuk gas asetilen-udara, suhunya 2200°C dan gas asetilen-dinitrogen oksida (N_2O) sebesar 3000°C.

Sumber nyala yang paling banyak digunakan adalah campuran asetilen sebagai bahan pembakar dan udara sebagai pengoksidasi.

Cara pengatoman pada nyala

Pemasukan sampel ke dalam nyala dengan cara yang seragam membutuhkan suatu alat yang mampu mendispersikan sampel secara seragam di dalam nyala. Ada beberapa cara atomisasi dengan nyala ini, yaitu:

- i. Cara langsung (pembakar konsumsi total atau *total consumption burner*)

Pada cara ini, sampel dihembuskan (diaspirasikan) secara langsung ke dalam nyala, dan semua sampel akan dikonsumsi oleh pembakar. Variasi ukuran kabut (*droplet*) sangat besar. Diameter partikel rata-rata sebesar 20 mikron, dan sejumlah partikel ada yang mempunyai diameter lebih besar 40 mikron. Semakin besar kabut yang melewati nyala (tanpa semuanya diuapkan), maka efisiensinya semakin rendah.

- ii. Cara tidak langsung

Pada model ini, larutan sampel dicampur terlebih dahulu dengan bahan pembakar dan bahan pengoksidasi dalam suatu kamar pencampur sebelum dibakar. Tetesan-tetesan yang besar akan tertahan dan tidak masuk ke dalam nyala. Dengan cara ini, ukuran terbesar yang masuk ke dalam nyala ± 10 mikron sehingga nyala lebih stabil dibandingkan dengan cara langsung.

- b. Tanpa nyala (*Flameless*)

Pengatoman tanpa nyala dapat dilakukan dalam tungku dari grafit. Sistem ini dapat melalui 3 tahap, yaitu: pengeringan (*drying*) yang

membutuhkan suhu yang relatif rendah; pengabuan (*ashing*) yang membutuhkan suhu yang lebih tinggi karena untuk menghilangkan matriks kimia dengan mekanisme volatilisasi atau pirolisis; dan pengatoman (*atomising*). Pada umumnya waktu dan suhu pemanasan tanpa nyala dilakukan dengan cara terprogram.

3. Monokromator

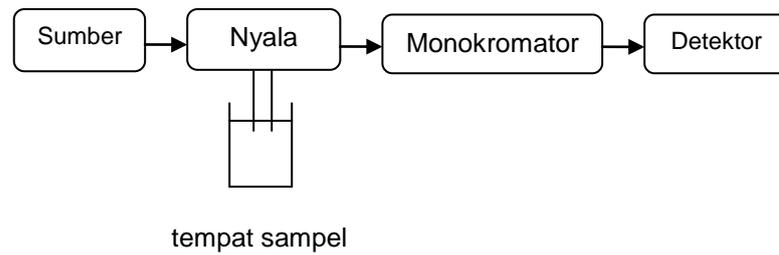
Pada SSA, monokromator dimaksudkan untuk memisahkan dan memilih panjang gelombang yang digunakan dalam analisis. Di samping sistem optik, dalam monokromator juga terdapat suatu alat yang digunakan untuk memisahkan radiasi resonansi dan kontinu yang disebut dengan *chopper*.

4. Detektor

Detektor digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang melalui tempat pengatoman. Biasanya digunakan tabung penggandaan foton (*photomultiplier tube*).

5. Readout

Readout merupakan suatu alat penunjuk atau dapat juga diartikan sebagai sistem pencatatan hasil. Pencatatan hasil dilakukan dengan suatu alat yang telah terkalibrasi untuk pembacaan suatu transmisi atau absorpsi. Hasil pembacaan dapat berupa angka atau berupa kurva dari suatu *recorder* yang menggambarkan absorbansi atau intensitas emisi.



Gambar 1. Diagram sederhana SSA (36)

Gangguan – gangguan pada Spektrofotometri Serapan Atom

Yang dimaksud dengan gangguan – gangguan (*interference*) pada SSA adalah peristiwa – peristiwa yang menyebabkan pembacaan absorbansi unsur yang dianalisis menjadi lebih kecil atau lebih besar dari nilai yang sesuai dengan konsentrasinya dalam sampel. Gangguan – gangguan yang dapat terjadi dalam SSA adalah sebagai berikut :

1. Gangguan yang berasal dari matriks sampel yang dapat mempengaruhi banyaknya sampel yang mencapai nyala.

Sifat-sifat tertentu matriks sampel dapat mengganggu analisis yakni matriks tersebut dapat berpengaruh terhadap laju aliran bahan bakar/gas pengoksidasi. Sifat-sifat tersebut adalah: viskositas, tegangan permukaan, berat jenis, dan tekanan uap.

Gangguan matriks yang lain adalah pengendapan unsur yang dianalisis sehingga jumlah atom yang mencapai nyala menjadi lebih sedikit dari konsentrasi yang seharusnya terdapat dalam sampel.

2. Gangguan kimia yang dapat mempengaruhi jumlah/banyaknya atom yang terjadi di dalam nyala.

Terbentuknya atom-atom netral yang masih dalam keadaan azas di dalam nyala sering terganggu oleh dua peristiwa kimia yaitu:

(a) Disosiasi senyawa-senyawa yang tidak sempurna

Terjadinya disosiasi yang tidak sempurna disebabkan oleh terbentuknya senyawa – senyawa yang bersifat refraktorik (sukar diuraikan di dalam nyala api). Contoh senyawa-senyawa yang refraktorik adalah: oksida-oksida dan garam-garam fosfat, silikat, aluminat dari logam alkali tanah, dan juga garam kalium fluorotantalat. Dengan terbentuknya senyawa yang bersifat refraktorik ini, maka akan mengurangi jumlah atom netral yang ada di dalam nyala.

(b) Ionisasi atom-atom di dalam nyala.

Hal ini dapat terjadi jika suhu yang digunakan untuk atomisasi terlalu tinggi. Prinsip analisis dengan SSA adalah mengukur absorbansi atom–atom netral yang berada dalam keadaan azas. Jika terbentuk ion maka akan mengganggu pengukuran absorbansi atom netral karena spektrum absorbansi atom-atom yang mengalami ionisasi tidak sama dengan spektrum atom dalam keadaan netral.

3. Gangguan oleh absorbansi yang disebabkan bukan oleh absorbansi atom yang dianalisis; yakni absorbansi oleh molekul-molekul yang tidak terdisosiasi di dalam nyala.

Adanya gangguan-gangguan di atas dapat diatasi dengan menggunakan cara-cara sebagai berikut:

a. Penggunaan nyala/suhu atomisasi yang lebih tinggi

Dengan suhu yang lebih tinggi, maka senyawa-senyawa akan bereaksi secara sempurna. Untuk menguraikan senyawa yang bersifat refraktorik, tidak hanya suhu yang harus ditingkatkan akan tetapi juga komposisi nyala; yakni perbandingan antara gas pembakar dan gas pengoksidasi. Jika jumlah gas pembakar berlebih, maka nyala akan bersifat mereduksi dan hal ini penting untuk membantu proses peruraian.

b. Penambahan senyawa penyangga

Senyawa penyangga akan mengikat gugus pengganggu (silikat, fosfat, aluminat, sulfat, dan sebagainya). Contoh unsur penyangga adalah Sr dan La yang ditambahkan pada analisis Ca secara SSA. Dengan penambahan senyawa penyangga ini maka ion fosfat akan terikat dan tidak akan membentuk Ca-fosfat yang bersifat refraktoris. Sementara itu, untuk menghindari pengaruh gangguan karena ionisasi dapat ditambahkan unsur lain yang mempunyai potensial ionisasi yang lebih rendah dari unsur yang dianalisis.

c. Pengekstraksian unsur yang akan dianalisis

Untuk mengekstraksi senyawa logam dalam pelarut organik, maka logam tersebut harus dibuat dalam bentuk kompleks lalu kompleks tersebut dapat diekstraksi dengan pelarut organik. Sebagai contoh, analisis tantalum dapat diganggu oleh adanya unsur kalium

membentuk K_2TaF_6 yang bersifat refraktorik. Meskipun demikian, kompleks TaF_4 dapat diekstraksi dengan pelarut metilisobutil keton.

d. Pengekstraksian ion atau gugus pengganggu

Gangguan kimia yang ditimbulkan oleh ion atau gugus pengganggu dapat dihindari dengan jalan mengekstraksi ion atau gugus pengganggu tersebut. Sebagai contoh, analisis logam dalam jumlah sekelumit (*trace analysis*) dalam biji besi. Adanya besi dalam jumlah yang besar dapat mengganggu proses penetapan kadar. Gangguan dari besi ini dapat dihindari dengan jalan mengekstraksinya menggunakan pelarut isobutil asetat.

4. Gangguan oleh penyerapan non-atomik (*non atomic absorption*)

Gangguan jenis ini berarti terjadinya penyerapan cahaya dari sumber sinar yang bukan berasal dari atom-atom yang akan dianalisis. Penyerapan non-atomik dapat disebabkan adanya penyerapan cahaya oleh partikel-partikel padat yang berada di dalam nyala.

Cara mengatasi gangguan penyerapan non-atomik ini adalah dengan bekerja pada panjang gelombang yang lebih besar atau pada suhu yang lebih tinggi. Jika kedua cara ini masih belum bisa membantu menghilangkan gangguan penyerapan non-atomik ini, maka satu-satunya cara adalah dengan mengukur besarnya penyerapan non-atomik menggunakan sumber sinar yang memberikan spektrum kontinyu. Alat yang digunakan dilengkapi dengan lampu katoda nikel yang diisi dengan gas hidrogen.