

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Arsen (As) adalah salah satu unsur yang sering terdeteksi dalam air tanah dan dianggap sebagai salah satu kontaminan lingkungan yang paling berbahaya, karena potensi risiko kesehatan yang signifikan di berbagai negara (Awual et al., 2019). Arsen ditemukan dalam bentuk organik maupun anorganik di lingkungan. Bentuk organik arsen seperti arsenobetain ditemukan pada hewan laut (Ghosh et al., 2022). Bentuk arsen anorganik diketahui dalam dua keadaan oksidasi: arsenit atau As(III) dan arsenat atau As(V). Keseimbangan antara kedua bentuk tersebut bervariasi dan bergantung pada matriks dan dapat mengalami oksidasi atau reduksi tergantung pada lingkungan tempat spesies tersebut terpapar. As(V) merupakan keadaan paling stabil dalam air yang toksik, sedangkan dalam lingkungan reduktif As(V) dengan cepat direduksi menjadi bentuk yang lebih beracun yakni As(III) (Ferrante et al., 2019).

Arsen merupakan metaloid yang tersebar luas di lingkungan laut dan memiliki siklus biogeokimia yang kompleks, yang berdampak signifikan terhadap toksisitasnya pada organisme laut serta rantai makanan yang mengikutinya. Arsen juga dikenal sebagai karsinogen kuat yang dapat menyebabkan kanker paru-paru, kandung kemih, dan kulit, serta neurotoksin dan hepatotoksin yang potensial. Sumber utama kontaminasi arsen berasal dari aktivitas pertambangan yang terkait dengan pengelolaan limbah *tailing* tambang (Alonso et al., 2020). Arsen umumnya muncul bersamaan dengan kontaminan lain seperti logam Cd, Cu, Fe, Pb, Ni, dan Zn terutama dari operasi penambangan emas (Monteiro de Oliveira et al., 2021). Produksi dan pemrosesan tambang menghasilkan sedimen yang sering kali mengandung tingkat kontaminasi arsen yang tinggi (Baeyens et al., 2019).

Konsentrasi rata-rata arsen total di perairan laut yang tidak terkontaminasi berkisar antara 1 hingga 2 μgL^{-1} (Kalia et al., 2023). Kandungan arsen di air laut terbuka sekitar 1,5 μgL^{-1} dan konsentrasi arsen di air tawar kurang dari 10 μgL^{-1} (Wang et al., 2022). Kandungan arsen dalam air laut terbuka rata-rata 1,54 μgL^{-1} (Leal et al., 2018). Pemanfaatan sumber daya tambang telah menghasilkan limbah tambang dengan kandungan arsen yang cukup tinggi, terutama di lokasi tambang bersejarah. Penyebaran limbah tambang melalui angin atau aliran air yang tidak terkontrol merupakan sumber kontaminasi arsen yang signifikan bagi lingkungan sekitarnya. Daerah pertambangan yang terdampak oleh pelepasan arsen jangka panjang di luar wilayah tambang menjadi masalah serius bagi ekosistem dan kesehatan manusia, terutama jika wilayah tersebut digunakan untuk kegiatan peternakan atau pertanian (Abad-Valle et al., 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Marschner et al. (2018) yakni validasi anorganik arsen S dengan generator hidrida pada sampel ikan dan rumput laut yang NO_3 dan H_2O_2 . Hasil yang didapatkan adalah keberterimaan pada akurasi reproduktibilitas antara laboratorium. Barnet et al. (2021) metode terhadap arsen pada sampel beras menggunakan LC-ICP-MS dengan akurasi yang baik dan memperoleh limit deteksi paling rendah 0,1 $\mu\text{g/g}$ dan perolehan konsentrasi terbesar sebesar 200 $\mu\text{g/g}$.



Validasi metode merupakan suatu proses yang dilakukan secara sistematis dan terdokumentasi untuk memberikan bukti objektif bahwa metode analisis yang digunakan memiliki kemampuan dan kinerja yang memadai dalam menghasilkan data yang akurat, presisi, dan andal sesuai dengan tujuan pengujian yang telah ditetapkan. Proses ini memastikan bahwa metode tersebut sesuai dengan kondisi aktual laboratorium tempat pengujian dilakukan, meliputi faktor personel yang menjalankan analisis, instrumen yang digunakan, serta karakteristik matriks sampel yang dianalisis (Ali et al., 2024).

Validasi metode mengonfirmasi performa metode di lapangan melalui pengujian terhadap sejumlah parameter seperti akurasi, presisi, linearitas, limit deteksi, limit kuantisasi, serta rentang kerja metode. Validasi metode berfungsi untuk menjamin bahwa hasil analisis yang diperoleh dapat dipercaya, konsisten, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Arias-Santé et al., 2024).

Validasi metode penentuan arsen dalam air laut mengacu pada ISO 17378-2:2014 *water quality—determination of arsenic and antimony part 2: method using hydride generation atomic absorption spectrometry* (HG-AAS). Validasi metode pengujian kadar arsen dalam air laut dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom generator hidrida ini dilakukan untuk memberikan hasil yang akurat dan presisi dengan menentukan hasil keberterimaan metode tersebut.

1.2 Teori

1.2.1 Air laut

Air laut merupakan larutan kompleks yang terdiri atas air (H_2O) sebagai pelarut utama dan berbagai zat terlarut, terutama garam-garam anorganik, gas, serta senyawa organik alami. Komposisinya relatif konstan di laut terbuka, dengan kandungan utama berupa natrium klorida ($NaCl$), magnesium sulfat ($MgSO_4$), kalsium karbonat ($CaCO_3$), dan kalium klorida (KCl) (Zhang et al., 2024).

Air laut memiliki salinitas rata-rata sekitar 35‰ (PSU), pH berkisar antara 7,8 hingga 8,3, densitas sekitar $1,025 \text{ g/cm}^3$, serta titik beku yang lebih rendah dibandingkan air tawar, yakni sekitar $-1,8^\circ\text{C}$. Sifat-sifat fisik ini dipengaruhi oleh suhu, tekanan, dan salinitas yang menentukan karakteristik termodinamika serta dinamika massa air laut. Air laut mengandung sistem penyangga karbonat–bikarbonat yang menjaga kestabilan pH, serta gas-gas terlarut seperti oksigen, karbon dioksida, dan nitrogen (Ludwig, 2022).

Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 19 tahun 1999 tentang pengendalian pencemaran dan/atau kerusakan laut dalam pasal 1 ayat 1, laut adalah ruang wilayah lautan yang merupakan kesatuan geografis beserta segenap unsur terkait padanya yang batas dan sistemnya ditentukan berdasarkan aspek fungsional. Pasal 1 ayat 2 yakni pencemaran laut adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan laut oleh kegiatan manusia turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan dengan baku mutu dan/atau fungsinya.



rgan berasal dari pelapukan batuan, letusan gunung berapi, dan entu. Penggunaan herbisida, pestisida, dan pengawet kayu yang secara luas dalam jangka waktu yang sangat lama merupakan

sumber utama arsen. Metaloid ini tidak terdegradasi dan tidak dapat dihancurkan di lingkungan. As pun memiliki kelarutan dan mobilitasnya yang tinggi dalam ekosistem perairan (Wang et al., 2022).

As terdapat secara alami di semua kompartemen lingkungan. As anorganik tersebar luas di lingkungan dan ditemukan dalam keadaan oksidasi +3 atau +5, baik terikat dalam kompleks atau sebagai oksianion arsenit As(III) dan arsenat As(V), yang dapat saling berkonversi selama ekstraksi (Trotta et al., 2025). Spesi As(III) meliputi $\text{As}(\text{OH})_3$, H_2AsO_3^- , HAsO_3^{2-} dan AsO_3^{3-} . Spesi As(V) meliputi AsO_4^{3-} , HAsO_4^{2-} , H_2AsO_4^- dan H_3AsO_4 . As(III) membentuk kompleks terutama dengan oksida dan nitrogen, sedangkan As(V) membentuk kompleks dengan sulfida (Adeloju et al., 2021). Sebagian besar arsen organik diproduksi oleh aktivitas biologis alami, namun arsenobetain, trimetilarsin oksida dan *arsenosugars* diproduksi melalui reaksi arsen anorganik dengan zat organik di lingkungan alami. Bentuk arsen organik yang paling melimpah dalam sistem akuatik adalah asam monometilarsonat (MMA) dan asam dimetilarsinat (DMA), yang diproduksi oleh fitoplankton akuatik, bakteri, dan mikroalga (Byeon et al., 2021).

As yang dilepaskan ke air tawar dan air laut mengalami berbagai reaksi biokimia yang melibatkan transportasi spasial fisik dan transformasi bentuk kimia. Transportasi dan distribusi arsen di perairan tidak hanya bergantung pada bentuk kimianya tetapi juga pada interaksinya dengan matriks lingkungan, terutama oksida logam seperti oksida besi dan oksida mangan. As dalam sistem perairan dapat diserap ke partikel bermuatan karena sifatnya yang seperti oksida dan dapat mengendap ke dalam sedimen sebagai partikel yang terflokulasi (Wang et al., 2022).

1.2.3 Spektrofotometer Serapan Atom-Generator Hidrida (HG-AAS)

HG-AAS adalah teknik yang digunakan untuk mengukur kadar arsen dalam berbagai matriks. Generator hidrida adalah teknik ampuh yang memanfaatkan unsur kimia dengan sifat khas golongan metaloid seperti As, Bi, Sb, Se, Te, Ge, dan Sn untuk membentuk hidrida yang mudah menguap. Prinsip metode pengujian kadar As yakni As dalam suasana asam akan bereaksi dengan natrium borohidrida menjadi AsH_3 yang mudah menguap. Senyawa tersebut didorong dengan gas argon ke dalam sel kuarsa yang dipanaskan sehingga membentuk atom fasa gas dari arsen. Atom fasa gas arsen akan menyerap radiasi yang dipancarkan oleh lampu katoda (Nugraha et al., 2017).

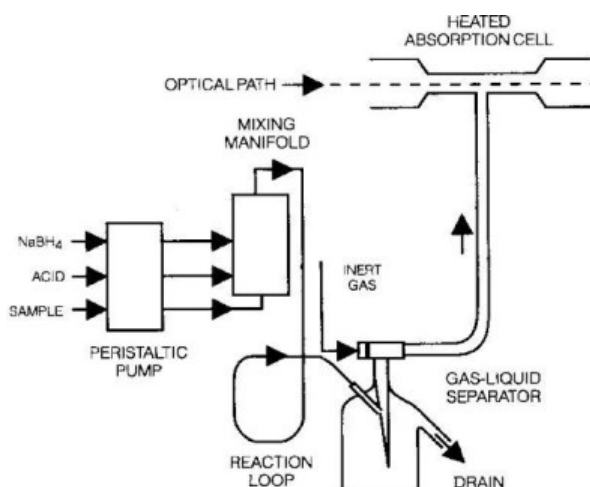


Teknik HG-AAS ini memiliki sensitivitas tinggi dan mampu mendeteksi unsur pada kadar jejak, sehingga lebih unggul dibandingkan AAS konvensional untuk unsur pembentuk hidrida (Juhászová et al., 2019). Komponen HG-AAS adalah sebagai berikut (Mohammed et al., 2018).



(Pompa Peristaltik). Tempat mengalirkan larutan sampel, asam, I_2 (reduktor) ke sistem pada laju yang stabil dan terkontrol. Pompa campuran tetap konstan untuk pembentukan hidrida yang efisien. (*Reaction Manifold*). Tempat bercampurnya sampel dan reagen ke reaksi utama. Reaksi reduksi berlangsung sebagian di sini.

3. *Gas-Liquid Separator* (Pemisah Fase). Pemisah gas hidrida (AsH_3) dari larutan cair sisa reaksi. Gas dipindahkan oleh gas pembawa ke sistem atomisasi, sedangkan cairan dibuang ke *drain*.
4. *Gas Pembawa (Inert Gas)*. Gas pembawa adalah gas yang membawa hasil reaksi ke *heated absorption cell (atomizer)*. Gas ini juga mencegah oksidasi hidrida sebelum mencapai *atomizer*.
5. *Borohidrida dan Asam*. Borohidrida bertindak sebagai pereduksi untuk membentuk untuk membentuk hidrida volatil. Asam memberikan suasana asam yang diperlukan untuk reaksi pembentukan hidrida.
6. *Heated Absorption Cell (Quartz Tube)*. Tempat gas hidrida diuraikan, terjadi atomisasi menjadi atom bebas dengan pemanasan dengan suhu $800 - 1000^\circ\text{C}$. Atom bebas ini kemudian menyerap cahaya dari lampu HCL (*hollow cathode lamp*) sesuai panjang gelombang karakteristiknya.
7. *Optical Path*. Jalur sinar dari sumber cahaya (HCL) melewati *atomizer* lalu ke detektor. Penyerapan cahaya oleh atom bebas diukur sebagai sinyal analitik.
8. *Drain (Waste Outlet)*. Tempat cairan sisa reaksi yang tidak ikut membentuk hidrida agar tidak mengganggu sistem gas.



Gambar 1. Komponen Alat HG-AAS

1.2.4 Validasi Metode

Validasi adalah konfirmasi melalui bukti-bukti pemeriksaan dan telah sesuai dengan tujuan pengujian. Validasi harus dilakukan terhadap metode tidak baku atau non standar dan metode yang dikembangkan di laboratorium. Validasi adalah konfirmasi melalui daan bukti yang objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu nuhi. Validasi metode analisis bertujuan untuk memastikan dan va metode analisis tersebut sudah sesuai untuk peruntukannya. diperuntukkan untuk metode analisis yang baru dibuat dan s-Santé et al., 2024). Validasi metode melibatkan keseluruhan nulai dari pengambilan sampel, preparasi sampel, analisis dan laporan hasil. Hal-hal terkait sebelum melakukan validasi metode



yakni instrumen, bahan atau reagen, analisis, dan dokumen. Proses validasi metode memiliki beberapa parameter yang diuji yakni akurasi, presisi, linearitas, *limit of detection* (LOD), *limit of quantification* (LOQ), selektivitas, ketangguhan, dan ketidakpastian pengukuran (Susanto et al., 2021).

Akurasi merupakan derajat ketepatan antara nilai yang diukur dengan nilai sebenarnya yang diterima. Akurasi merupakan kemampuan metode analisis untuk memperoleh nilai benar setelah dilakukan secara berulang. Nilai replikat analisis yang semakin dekat dengan sampel sebenarnya maka semakin akurat metode tersebut. Metode analisis yang mungkin digunakan untuk menetapkan akurasi yaitu metode menggunakan CRM (*Certified Reference Material*) dan adisi standar. CRM mempunyai nilai tertelusur ke SI dan dapat dijadikan sebagai nilai acuan (*reference value*) untuk nilai yang sebenarnya. Bahan yang mirip contoh uji yang diperkaya dengan analit yang kemurniannya tinggi atau disebut metode adisi standar digunakan apabila CRM tidak tersedia (Elezz et al., 2018).

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian hasil uji individual. diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata, jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi dibagi dalam dua kategori yaitu keterulangan (*repeatability*) dan ketertiruan (*reproducibility*). *Repeatability* adalah nilai presisi yang diperoleh jika seluruh pengukuran dihasilkan oleh satu orang analisis dalam satu periode tertentu, menggunakan contoh yang sama, pereaksi dan peralatan yang sama dalam laboratorium yang sama. Ketertiruan (*reproducibility*) adalah nilai presisi yang dihasilkan pada laboratorium yang berbeda (Parawansya dan Tohir, 2023).

Rentang kerja merupakan kisaran nilai di mana suatu metode mampu menghasilkan hasil pengukuran dengan tingkat ketidakpastian yang masih dapat diterima. Batas bawah rentang kerja dibatasi oleh batas kuantifikasi. Batas atas rentang kerja ditentukan oleh konsentrasi di mana anomali signifikan dalam sensitivitas analisis diamati (Chavan dan Desai, 2022). Linearitas adalah kemampuan metode analisis memberikan respon proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit (Zain dan Malik, 2024).

Limit of quantity (LOQ) merupakan konsentrasi terendah dari analit yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima. Limit deteksi (LOD) adalah konsentrasi terendah yang masih dapat terdeteksi oleh suatu instrumen (Perelonia et al., 2021). Selektivitas suatu metode adalah kemampuan mengukur zat tertentu secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. *Robustness* merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk tetap



ing reliabel dan konsisten, meskipun terjadi variasi kecil pada kondisi perbedaan suhu, pH larutan, konsentrasi reagen, dan waktu reaksi

ngukuran didefinisikan sebagai sejauh mana hasil pengukuran dari nilai sebenarnya, dan menjadi parameter penting untuk menilai laboratorium. Penentuan ketidakpastian pengukuran pada peralatan (timbangan, pipet satu volume, dan buret) sangat penting dalam

menjaga validitas hasil pengujian dan memastikan keterlacakan kalibrasi sesuai standar ISO/IEC 17025:2017 (Apostolova et al., 2023).

1.3 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. berapa nilai parameter validasi metode yang meliputi linearitas, selektivitas, limit deteksi, limit kuantitasi, akurasi, presisi, dan ketahanan metode penentuan arsen (As) pada air laut dengan spektrofotometer serapan atom-generator hidrida (HG-AAS)?
2. bagaimana evaluasi ketidakpastian pengukuran untuk pemastian hasil pengukuran dari metode penentuan arsen (As) pada air laut dengan spektrofotometer serapan atom-generator hidrida?
3. apakah kadar arsen pada air laut yang diuji memenuhi aturan baku mutu air laut berdasarkan Peraturan Pemerintah (PP) Republik Indonesia No. 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. menentukan nilai parameter validasi metode yang meliputi linearitas, selektivitas, limit deteksi, limit kuantitasi, akurasi, presisi, dan ketahanan metode penentuan arsen (As) pada air laut dengan spektrofotometer serapan atom-generator hidrida (HG-AAS)
2. menghitung ketidakpastian pengukuran untuk pemastian validitas hasil pengukuran dari metode penentuan arsen (As) pada air laut dengan spektrofotometer serapan atom-generator hidrida (HG-AAS)
3. menafsirkan kadar arsen pada air laut yang diuji berdasarkan Peraturan Pemerintah (PP) Republik Indonesia No. 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memvalidasi metode penentuan As pada air laut dengan spektrofotometer serapan atom-generator hidrida serta menambah pengetahuan mengenai pengujian terhadap suatu metode sebelum digunakan dalam analisis rutin di laboratorium.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah Argon 99,99%, *NANOpure water* (Thermo Scientific Barnstead), *arsenic single standard solution* 1000 µg/mL (Perkin Elmer), HCl 30% v/v (Merck), HNO₃ 65% v/v (Merck), KI (Merck), asam askorbat (Merck), NaBH₄ (Merck), NaOH (Merck), *Certified Reference Material* (CRM) P345-500 *WatR™ Pollution Trace Metals* (ERA), CRM NASS-7 (*National Research Council Canada*). Seluruh bahan penelitian yang digunakan berasal dari Laboratorium Lingkungan Timika, PT Freeport Indonesia.

2.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah alat-alat gelas laboratorium, The PinAAcle 900T series AA Spectrometers Graphite Furnace System (Perkin Elmer) yang dilengkapi dengan lampu EDL Arsen serta sel kuarsa, FIAS 400 *hydride generation* (Perkin Elmer) dilengkapi dengan *autosampler* (Perkin Elmer), labu ukur 50 mL, labu ukur 25 mL, vial 50 mL, vial 10 mL, botol plastik polietilena, saringan membran berpori 0,45 µm, dan neraca analitik. Seluruh alat penelitian yang digunakan berasal dari Laboratorium Lingkungan Timika, PT Freeport Indonesia.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada tanggal 24 Desember 2024 – 21 Maret 2025. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Lingkungan Timika PT Freeport Indonesia, Kota Timika, Provinsi Papua Tengah.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Lokasi Sampling

Sampel air laut dengan kode MCP-3 diambil pada titik koordinat 5,07556° LS dan 136,98788° BT, yang terletak di perairan Laut Arafura, sebelah selatan Teluk Bintuni, Provinsi Papua Barat.

2.4.2 Preparasi Sampel

Sampel disaring menggunakan saringan membran berpori 0,45 µm dan filtratnya diasamkan dengan HNO₃ pekat hingga pH ≤ 2.

2.4.3 Pembuatan Larutan Baku Arsen 100 µg/L

Larutan *arsenic single standard solution* 1000 µg/mL dipipet sebanyak 5 µL ke dalam *nanopure*, lalu diencerkan hingga 50 mL dan dihomogenkan.



Larutan Kerja Arsen

libuat dengan 1 blanko dan 4 kadar yang berbeda (0,5; 1,25; 2,5; mL.

2.4.5 Pembuatan Larutan Prareduktan KI 5% Asam Askorbat 5%

Sebanyak 5 g KI dan 5 g asam askorbat ditimbang pada gelas kimia, dilarutkan dengan *nanopure* dan dihomogenkan, diencerkan hingga 100 mL dan dihomogenkan.

2.4.6 Pembuatan Larutan 1000 mL HCl 10%

HCl pekat sebanyak 100 mL ditambahkan pada *nanopure*, diencerkan hingga 1000 mL dan dihomogenkan.

2.4.7 Pembuatan Larutan 1000 mL NaOH 0,05%

Sebanyak 0,5 g NaOH ditimbang menggunakan gelas kimia 125 mL lalu dilarutkan dalam *nanopure*, dipindahkan pada wadah botol HDPE 1000 mL, diencerkan hingga 1000 mL menggunakan *nanopure* dan dihomogenkan.

2.4.8 Pembuatan Larutan 1000 mL NaBH₄ 0,2% dalam NaOH 0,05%

Sebanyak 2 g NaBH₄ ditimbang menggunakan gelas kimia 125 mL lalu dilarutkan menggunakan NaOH 0,05%, dipindahkan pada wadah botol HDPE 1000 mL, diencerkan hingga 1000 mL dengan NaOH 0,05% dan dihomogenkan.

2.4.9 Validasi Metode

Uji Linearitas. Larutan baku As 100 µg/L sebanyak 125; 312,5; 625; 1250 µL dimasukkan ke dalam labu ukur dari konsentrasi 0,5 hingga 5 µg/L. Ditambahkan 2,5 mL KI asam askorbat 5% dan 2,5 mL HCl pekat. Larutan didiamkan 40 menit dan dihimpitkan menggunakan *nanopure* hingga tanda batas. Aspirasikan larutan kerja dimulai dari konsentrasi terendah dan dibaca nilai serapannya lalu buat kurva kalibrasi dan persamaan garis lurus hingga diperoleh nilai koefisien $r \geq 0,999$. Absorbansi deret standar diukur menggunakan HG-AAS pada panjang gelombang 193,7 nm. Kondisi alat HG-AAS disesuaikan seperti pada Lampiran 1 Tabel 10. Linearitas dihitung menggunakan persamaan garis lurus (Chavan dan Desai, 2022):

$$y = bx + a \quad (3)$$

di mana, y adalah absorbansi, b adalah *slope*, x adalah konsentrasi, dan a adalah *intercept*.

Uji Akurasi. Uji akurasi menggunakan CRM P345-500, NASS-7, dan *spike* sampel MCP-3. CRM P345-500 (fp 50) sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan 5 mL HCl pekat serta 5 mL prareduktan KI 5% asam askorbat 5%. Larutan didiamkan selama 40 menit lalu dihimpitkan dengan *nanopure*. Larutan CRM dibuat sebanyak 7 replikat. NASS-7 dimasukkan sebanyak 2 mL ke dalam vial dan 2 mL HCl pekat serta 2 mL prareduktan KI 5% asam askorbat 5%. Larutan didiamkan 10 menit lalu ditambahkan 5 mL *nanopure*. Larutan NASS-7 dibuat 3 replikat. Sampel MCP-3 sebanyak 900 µL dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan standar 100 µg/L sebanyak 100 µL. Larutan ditambahkan 1 mL HCl pekat serta 1 mL prareduktan KI 5% asam askorbat 5%. Larutan didiamkan selama 40 menit lalu dihimpitkan dengan *nanopure*. Larutan MCP-3 dibuat sebanyak 7 replikat. Larutan MCP-3 ditambahkan standar 100 µg/L sebanyak 100 µL. Larutan ditambahkan 1 mL HCl pekat serta 1 mL prareduktan KI 5% asam askorbat 5%. Larutan didiamkan selama 40 menit lalu dihimpitkan dengan *nanopure*. Larutan MCP-3 dibuat sebanyak 7 replikat.



sampel MCP-3 dengan *spike* dibuat sebanyak 7 replikat. Absorbansi larutan diukur menggunakan HG-AAS pada panjang gelombang 193,7 nm. Akurasi dihitung dengan persen perolehan kembali (%*Recovery*) (Malina dan Kamelia, 2023):

$$\%Recovery = \frac{C}{C_{ref}} \times 100\% \quad (4)$$

$$\%Recovery = \frac{CF - CA}{C'A} \times 100\% \quad (5)$$

di mana, C adalah konsentrasi CRM yang diperoleh ($\mu\text{g/L}$), C_{ref} adalah konsentrasi dari sertifikat CRM ($\mu\text{g/L}$), CF adalah konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran ($\mu\text{g/L}$), CA adalah konsentrasi sampel yang sebenarnya ($\mu\text{g/L}$), dan $C'A$ adalah konsentrasi analit yang ditambahkan ($\mu\text{g/L}$).

Uji Selektivitas. Uji selektivitas dilakukan dengan menganalisis CRM P345-500 dan NASS-7. Selektivitas dinilai berdasarkan respon absorbansi yang muncul pada panjang gelombang karakteristik analit, serta ketiadaan sinyal interferensi pada pengukuran CRM. Metode dinyatakan selektif apabila sinyal absorbansi analit terdeteksi jelas pada panjang gelombang spesifiknya dan tidak terdapat sinyal lain yang signifikan pada kondisi pengukuran yang sama (Chavan dan Desai, 2022).

Uji Presisi. Uji presisi menggunakan sampel MCP-3. Sampel MCP-3 sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan 1 mL HCl pekat dan 1 mL prereduktan KI 5% asam askorbat 5%. Larutan didiamkan selama 40 menit lalu ditambahkan 5 mL *nanopure*. Larutan sampel MCP-3 dengan *spike* dibuat sebanyak 7 replikat. Absorbansi larutan diukur menggunakan HG-AAS pada panjang gelombang 193,7 nm. Kadar As ditentukan dengan menggunakan persamaan (Nuraini et al., 2025):

$$\text{Kadar As } (\mu\text{g/L}) = C \times fp \quad (6)$$

di mana, C adalah konsentrasi sampel yang diperoleh ($\mu\text{g/L}$) dan fp adalah faktor pengenceran.

Hasil presisi ditentukan menggunakan persamaan standar deviasi dan persen koefisien variasi (%CV) (Parawansya dan Tohir, 2023):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (7)$$

$$\%CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (8)$$



di mana, SD adalah standar deviasi, x_i adalah nilai konsentrasi yang diperoleh dan n adalah jumlah replikat.

Presisi ditentukan berdasarkan %CV Horwitz yang menggambarkan keterkaitan antara presisi yang dapat diterima dan kadar analit dengan persamaan:

$$\%CV \text{ Horwitz} = 2^{1-0,5\log C} \quad (9)$$

di mana, C adalah rata-rata konsentrasi larutan standar dikali 10^{-9} .

Uji Limit Deteksi dan Limit Kuantisasi. *Nanopure* dipipet sebanyak 8 mL pada tujuh vial lalu ditambahkan 1 mL HCl pekat dan 1 mL prereduktan KI 5% asam askorbat 5%. Larutan didiamkan selama 40 menit. Absorbansi blanko diukur menggunakan HG-AAS pada panjang gelombang 193,7 nm. Limit deteksi dan limit kuantisasi ditentukan menggunakan persamaan (Nuraini et al., 2025):

$$LOD = \frac{3 \times SD}{b} \quad (10)$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{b} \quad (11)$$

di mana, SD adalah standar deviasi dan b adalah *slope*.

Uji Robustness. Uji *robustness* dilakukan untuk menilai ketahanan metode terhadap variasi kecil dalam kondisi analisis. Pengujian dilakukan menggunakan desain faktorial Plackett–Burman yaitu rancangan faktorial yang memungkinkan pengujian beberapa parameter sekaligus pada dua tingkat kondisi, yaitu kondisi tinggi (+1) dan kondisi rendah (−1). Pada pengujian ini dilakukan perubahan pada beberapa parameter utama, seperti konsentrasi HCl, konsentrasi $NaBH_4$, konsentrasi KI dan asam askorbat, operator, waktu prereduksi, dan volume penambahan reagen. Uji *robustness* dengan CRM P345-500 untuk melihat ketertelusuran dan validitas hasil yang diperoleh (Elezz et al., 2018).

Uji Estimasi Ketidakpastian Pengukuran. Ketidakpastian pengukuran pada penelitian ini meliputi ketidakpastian preparasi sampel, ketidakpastian pembuatan standar, ketidakpastian kurva kalibrasi, dan ketidakpastian *repeatability*. Penentuan ketidakpastian pengukuran dimulai dengan membuat diagram tulang ikan (*fish bone*).

Estimasi ketidakpastian pengukuran dapat dihitung dengan menggabungkan semua varian ke dalam persamaan ketidakpastian gabungan dan dias. Ketidakpastian mikropipet dihitung menggunakan persamaan (2020):

$$\mu_{\text{kal mikropipet}} = \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (12)$$



$$\mu_{\text{res neraca}} = \frac{\text{resolusi neraca}}{\sqrt{12}} \quad (13)$$

$$\mu_{\text{neraca}} = \frac{U \text{ neraca}}{2} \quad (14)$$

$$\mu_{\text{mikropipet}} = \sqrt{(\mu_{\text{kal mikropipet}})^2 + (\mu_{\text{res neraca}})^2 + (\mu_{\text{neraca}})^2} \quad (15)$$

di mana, $\mu_{\text{kal mikropipet}}$ adalah ketidakpastian kalibrasi mikropipet, SD adalah nilai standar deviasi kalibrasi mikropipet, n adalah jumlah data kalibrasi mikropipet, $\mu_{\text{res neraca}}$ adalah ketidakpastian resolusi neraca, μ_{neraca} adalah ketidakpastian neraca, U neraca adalah nilai ketidakpastian neraca yang diperluas, dan $\mu_{\text{mikropipet}}$ adalah ketidakpastian gabungan mikropipet.

Ketidakpastian alat gelas labu ukur dapat dihitung menggunakan persamaan berikut (Apostolova et al., 2023):

$$\mu_{\text{kal}} = \frac{\Delta V}{\sqrt{3}} \quad (16)$$

$$\mu_{\text{ET}} = \frac{V \times \Delta T \times \alpha}{\sqrt{3}} \quad (17)$$

$$\mu_{\text{labu ukur}} = \sqrt{(\mu_{\text{kal}})^2 + (\mu_{\text{ET}})^2} \quad (18)$$

di mana, μ_{kal} adalah ketidakpastian alat gelas labu ukur, μ_{ET} adalah ketidakpastian efek temperatur, ΔV adalah toleransi volume, V adalah volume labu ukur, ΔT adalah toleransi temperatur, α adalah nilai ketetapan sebesar $0,00021 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, dan $\mu_{\text{labu ukur}}$ adalah ketidakpastian gabungan labu ukur.

Ketidakpastian standar dapat diperoleh menggunakan persamaan berikut.

$$S^2 = \frac{\sum (y - y_i)^2}{n - 2} \quad (19)$$

$$\text{var}(x) = \frac{S^2}{b^2} \quad (20)$$

$$\mu(x, y) = \sqrt{\text{var}(x)} \quad (21)$$



di mana, y adalah absorbansi, y_i adalah absorbansi yang telah diplotkan ke dalam regresi linear, n adalah jumlah standar, b adalah *slope*, dan $\mu(x,y)$ adalah ketidakpastian standar.

Ketidakpastian gabungan presisi dapat dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\mu_{\text{presisi}} = \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (22)$$

di mana, μ_{presisi} adalah ketidakpastian gabungan presisi, SD adalah standar deviasi, dan n adalah jumlah pengulangan.

$$\mu_{C_s} = \text{Kons sampel} \times \sqrt{\left(\frac{\mu_{\text{mikropipet}}}{V_{\text{pipet}}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{labu ukur}}}{V_{\text{labu ukur}}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{standar}}}{x}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{\text{presisi}}}{\text{presisi}}\right)^2} \quad (23)$$

Nilai ketidakpastian diperluas diperoleh menggunakan persamaan berikut:

$$UC = \mu_C \times \text{faktor cakupan} \quad (24)$$

di mana, nilai faktor cakupan adalah 2.

