



Validasi Metode Penetapan Kadar Besi (Fe) dalam Telur Bebek Menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

Khairiyanti Khairiyanti^{1*}, Handrian Syahputra Siregar²

¹ Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Terbuka, Indonesia

² Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri (BSPJI) Banjarbaru, Indonesia

Alamat: Jl. Kebun Karet, Kel. Loktabat Utara, Kec. Banjarbaru Utara, Banjarbaru – Kalimantan Selatan

Korespondensi penulis: khairiyantihandrian@yahoo.co.id

Abstract : Iron (Fe) is an essential mineral that plays a crucial role in hemoglobin formation and various biological processes in the body. Duck eggs are known to contain a relatively high iron content, making it important to determine their iron levels using an accurate and reliable analytical method. This study aimed to validate the Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) method for determining iron content in duck eggs available in the Banjarbaru market, South Kalimantan. Duck egg samples were analyzed using a wet digestion method before measurement with AAS at a wavelength of 248.3 nm. The validated method parameters included linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision, and accuracy. The results showed that the calibration curve had a correlation coefficient (r) of 0.9994 and a determination coefficient (R²) of 0.9988, indicating excellent linearity in the range of 0.0–10 ppm. The obtained LOD and LOQ values were 0.08 ppm and 0.27 ppm, respectively. Precision was demonstrated by an RSD of 7.01% for repeatability and 6.94% for intermediate precision, meeting the acceptance criteria. The accuracy of the method, indicated by an average % recovery of 98.40% ± 0.84, was also within the acceptable range (80–110%). Therefore, the validated AAS method in this study can be used as an accurate and reliable approach for analyzing iron content in duck eggs.

Keywords: Duck, eggs, Iron, Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS), Validation.

Abstrak : Zat besi (Fe) merupakan mineral esensial yang berperan penting dalam pembentukan hemoglobin dan berbagai proses biologis tubuh. Telur bebek diketahui mengandung kadar besi yang cukup tinggi, sehingga penting untuk menentukan kadar besi dengan metode analisis yang akurat dan dapat diandalkan. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dalam penentuan kadar besi pada telur bebek yang beredar di pasar Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Sampel telur bebek dianalisis menggunakan metode destruksi basah sebelum dilakukan pengukuran dengan SSA pada panjang gelombang 248,3 nm. Parameter validasi metode yang diuji meliputi linieritas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), presisi, dan akurasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurva kalibrasi memiliki koefisien korelasi (r) sebesar 0,9994 dengan koefisien determinasi (R²) sebesar 0,9988, menunjukkan linieritas yang sangat baik dalam rentang 0,0–10 ppm. Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh masing-masing sebesar 0,08 ppm dan 0,27 ppm. Nilai presisi ditunjukkan oleh RSD sebesar 7,01% untuk repeatability dan 6,94% untuk intermediate precision, yang memenuhi kriteria keberterimaan. Akurasi metode yang ditunjukkan melalui nilai % recovery rata-rata sebesar 98,40% ± 0,84, juga berada dalam kisaran yang diterima (80–110%). Dengan demikian, metode SSA yang divalidasi dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai metode yang akurat dan andal untuk analisis kadar besi dalam telur bebek.

Kata kunci: Telur, Bebek, Besi, Spektrofotometri Serapan Atom (SSA), Validasi.

1. LATAR BELAKANG

Tubuh memerlukan zat besi untuk membuat mikroelemen penting untuk pembentukan darah, terutama untuk membuat hemoglobin. Di dalam tubuh kita, zat besi berkonjugasi dalam dua bentuk yaitu bentuk aktif ferro (Fe²⁺) dan bentuk inaktif ferri (Fe³⁺) (Sediaoetama, 2006). Zat besi (Fe) adalah komponen penting dalam pembentukan hemoglobin (Hb), suatu zat warna yang ada dalam darah merah yang membantu tubuh mengangkut oksigen (O₂) dan

karbondioksida (CO₂). Zat besi (Fe) digunakan dengan hemat oleh tubuh manusia. Tubuh mengambil kembali zat besi (Fe) yang terlepas saat butir darah merah diubah untuk membuat hemoglobin (Hb) baru (Ramli, 2008).

Zat besi adalah salah satu mineral yang ditemukan dalam telur bebek (Fardiaz dkk., 2023). Jika dikonsumsi dengan benar sebagai bagian dari makanan sehari-hari yang seimbang, telur bebek dapat memenuhi sebagian besar nutrisi yang dibutuhkan manusia. Telur bebek mengandung banyak protein dan vitamin serta semua asam amino esensial (Chaiyasit *et al.*, 2019). Banyak faktor memengaruhi kualitas telur bebek seperti genetika, pakan yang diberikan kepada bebek, dan kondisi penyimpanan telur, yang mencakup proses penanganan, waktu penyimpanan, suhu, dan kelembaban (Liu *et al.*, 2016).

Dalam industri pangan, pengukuran kadar besi dalam telur bebek sangat penting dilakukan. Untuk mengukur kadar besi dalam sampel makanan, metode spektrofotometri serapan atom (SSA) merupakan metode analisis yang akurat dan sensitif. Jika metode pengukuran yang tidak tepat digunakan pada bahan makanan, dapat berdampak besar pada proses pengolahan makanan.

Sebelum melakukan pengukuran, metode yang digunakan harus terlebih dahulu divalidasi secara menyeluruh untuk memastikan bahwa metode tersebut akurat dan dapat diandalkan untuk laboratorium pangan serta memberikan informasi tentang kandungan besi dalam telur bebek untuk kepentingan industri pangan. Beberapa parameter yang dilakukan untuk validasi metode kadar besi dalam telur bebek ini yaitu linieritas, LOD, LOQ, presisi, akurasi, dan recovery. Tujuan validasi metode ini adalah untuk memastikan bahwa teknik yang digunakan memenuhi persyaratan standar yang berlaku.

2. KAJIAN TEORITIS

Kandungan Besi dalam Telur Bebek

Besi (Fe) adalah mineral esensial yang memiliki peran sangat penting dalam berbagai fungsi biologis tubuh manusia. Mineral ini terlibat dalam sintesis hemoglobin, mioglobin, serta berbagai enzim yang berperan dalam metabolisme energi dan transportasi oksigen (WHO, 2021). Jika tubuh kekurangan zat besi, dapat muncul kondisi anemia defisiensi besi, yang ditandai dengan gejala seperti kelelahan, penurunan daya konsentrasi, serta gangguan perkembangan kognitif, terutama pada anak-anak (Astuti, 2019).

Salah satu sumber makanan yang kaya akan protein dan mineral, termasuk besi, adalah telur bebek. Kadar besi dalam telur bebek dapat bervariasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti jenis pakan, usia unggas, dan lingkungan pemeliharaan. Penelitian Sari *et al.* (2020) mengatakan bahwa kandungan mineral dalam telur unggas sangat dipengaruhi oleh keseimbangan nutrisi dalam pakan, terutama kandungan zat besi yang diberikan. Menariknya, telur bebek umumnya mengandung lebih banyak besi dibandingkan telur ayam, hal ini disebabkan oleh perbedaan dalam metabolisme unggas dan pola makan yang mereka jalani (Prasetyo dan Widyaningsih, 2021).

Prinsip Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) adalah sebuah teknik analisis yang digunakan untuk mengukur konsentrasi unsur logam dalam suatu sampel dengan cara mendeteksi cahaya yang diserap oleh atom-atom bebas dalam nyala atau furnace (Skoog *et al.*, 2018). Prinsip dasar dari SSA adalah absorpsi radiasi oleh atom dalam keadaan bebas, yang selanjutnya dianalisis pada panjang gelombang tertentu sesuai dengan karakteristik unsur logam yang diukur.

Teknik SSA memiliki sejumlah keunggulan, terutama dalam hal sensitivitas dan selektivitas, dibandingkan dengan metode analisis lainnya seperti spektrofotometri UV-Vis atau kolorimetri. Sensitivitas dari SSA dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kondisi nyala, panjang gelombang tertentu, serta jenis larutan standar yang digunakan (Miller dan Miller, 2018). Jika dibandingkan dengan metode spektrofotometri lainnya, SSA menunjukkan keunggulan dalam analisis logam, karena memiliki batas deteksi yang lebih rendah dan gangguan matriks yang minimal (Holler *et al.*, 2018).

Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis merupakan evaluasi terhadap parameter tertentu yang didasarkan pada hasil percobaan laboratorium. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa parameter tersebut memenuhi syarat untuk digunakan (Harmita, 2004). Laboratorium diwajibkan untuk memvalidasi metode non-standar, metode yang dikembangkan secara internal, serta metode standar yang diterapkan di luar konteks semula atau telah dimodifikasi (BSN, 2017).

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis adalah

1. Linieritas dan Rentang Linier

Linieritas mengacu pada kemampuan metode analisis untuk memberikan respons yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel, baik secara langsung maupun melalui transformasi matematik. Rentang metode diartikan sebagai batas terendah dan tertinggi dari analit yang dapat ditentukan dengan akurasi, ketepatan, dan linearitas yang dapat diterima (Harmita, 2004).

2. Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi

Limit deteksi (LOD) adalah parameter yang menunjukkan batas terkecil yang dapat dideteksi oleh suatu alat atau instrumen. Sementara itu, limit kuantifikasi (LOQ) adalah konsentrasi terendah dari analit yang masih dapat diukur dan memenuhi kriteria akurasi serta presisi. Limit kuantifikasi sering juga dikenal sebagai limit pelaporan (limit of reporting) (Yulia, 2010).

3. Presisi dan Akurasi

Akurasi merupakan indikator seberapa dekat hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya. Jika terdapat penyimpangan signifikan (bias), akurasi cenderung rendah, yang diakibatkan oleh kesalahan sistematis. Sebaliknya, ketelitian hasil analisis yang baik ditunjukkan dengan nilai deviasi yang rendah. Semakin tinggi akurasi, semakin rendah Relative Standard Deviation (RSD) yang menandakan tidak adanya bias. Kesalahan yang memengaruhi tingkat akurasi biasanya bersifat sistematis dan dapat diminimalkan melalui kalibrasi alat (Djuhariningrum, T, 2014).

Presisi mengacu pada kedekatan antara hasil pengukuran yang diperoleh dengan nilai teoritis atau nilai acuan yang diterima (ICH, 2005). Presisi juga dapat diartikan sebagai hubungan kedekatan antara hasil pengujian yang dilakukan di bawah kondisi tertentu (Fleming dan Williams, 1996). Semakin dekat hasil pengulangan pengukuran, maka semakin tinggi presisi dari pengukuran tersebut. Presisi mencerminkan kesalahan acak dari hasil pengukuran yang disebabkan oleh faktor-faktor tak terduga, yang bersifat bervariasi dalam ruang dan sementara. Kesalahan acak sulit dihindari dan banyak berkaitan dengan instrumen pengukur, sampel yang diukur, prosedur kerja, serta kondisi lingkungan (Aprilia, 2018).

3. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, tabung destruksi, block digestion kjeldahlterm, labu ukur, pipet mikro, kertas saring, tabung reaksi, vortex mixer, Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) Egilent FS 240, sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu telur bebek, asam nitrat (HNO_3) 65% p.a, asam perclorat (HClO_4) 60% p.a, air bebas ion, standar induk Fe 1.000 ppm (titrisol).

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Sampel

Persiapan sampel dilakukan dengan cara destruksi basah. Telur bebek dipecahkan dan dikeluarkan dari cangkangnya, kemudian dikocok homogen. Sebanyak 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung destruksi berkapasitas 50 ml dan dilakukan juga ekstrak blanko (tanpa sampel). Selanjutnya, ditambahkan 10 ml asam nitrat (HNO_3) 65% p.a. dan 1 ml asam perclorat (HClO_4) 60% p.a, lalu campuran tersebut dipanaskan menggunakan block digestion kjeldahlterm. Pemanasan dilakukan hingga muncul asap putih dan larutan menjadi bening, menandakan proses destruksi telah selesai. Larutan hasil destruksi didinginkan, kemudian disaring menggunakan kertas saring, dan filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 50 ml. Filtrat tersebut ditambahkan aquadest hingga mencapai tanda batas labu ukur, lalu dihomogenkan. Filtrat yang dihasilkan akan digunakan sebagai sampel dalam pengujian ini.

2. Pembuatan larutan standar besi (Fe)

Dari larutan standar induk 1.000 ppm dibuat menjadi 100 ppm dengan cara dipipet sebanyak 10 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan perlahan 1 ml HClO_4 pekat kemudian diimpitkan dengan air bebas ion hingga tepat 100 ml. Dari larutan standar 100 ppm dipipet 0 ml; 2 ml; 4 ml; 6 ml; 8 ml dan 10 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml kemudian diimpitkan dengan air bebas ion hingga tepat 100 ml, maka diperoleh larutan standar 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm Fe. Kemudian diukur dengan SSA dengan panjang gelombang 248,3 nm.

3. Tahap Pengujian

Validasi metode dilakukan dengan menetapkan berbagai parameter validitas yang meliputi linieritas dan rentang linier, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), serta presisi dan akurasi (ICH, 1994).

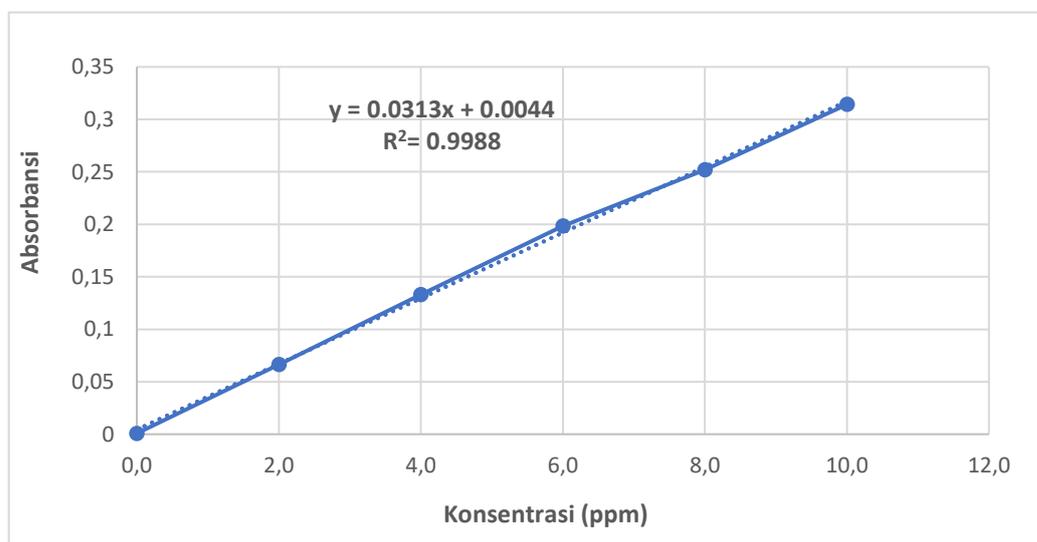
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan pengujian laboratorium dengan metode SSA untuk analisis besi dalam telur bebek yang beredar di pasar Banjarbaru – Kalimantan Selatan. Pengujian ini dilaksanakan di Laboratorium Balai Pengujian Standar Instrumen Pertanian Lahan Rawa Banjarbaru pada bulan Desember 2024. Dalam penelitian ini, sampel telur bebek dipersiapkan melalui metode destruksi basah dan kemudian dianalisis menggunakan teknik SSA.

Validasi Metode Analisis

1. Linieritas dan rentang linier

Linieritas diukur dengan cara membuat kurva kalibrasi, yaitu dengan memplot nilai absorbansi yang terukur pada sumbu y terhadap konsentrasi larutan standar pada sumbu x. Kurva linieritas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Linieritas Deret Standar Fe

Berdasarkan Gambar 1, diperoleh koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9988 dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9994, dengan persamaan regresi $y = 0,0313x + 0,0044$. Nilai r yang mencapai 0,9994 menunjukkan adanya hubungan linier yang searah antara konsentrasi

Fe dan nilai absorbansi. Artinya, semakin tinggi konsentrasi Fe, semakin tinggi pula nilai absorbansinya, dan sebaliknya.

Dari persamaan regresi tersebut, intersep (a) diperoleh sebesar 0,0044. Ini berarti bahwa ketika konsentrasi standar Fe adalah 0,00 ppm, nilai absorbansi yang terukur adalah 0,0044. Selain itu, nilai slope (b) sebesar 0,0313 menunjukkan bahwa terdapat pengaruh positif konsentrasi terhadap nilai absorbansi. Dengan kata lain, setiap peningkatan konsentrasi Fe sebesar satu ppm akan menyebabkan peningkatan absorbansi sebesar 0,0313. Metode analisis ini dianggap linier dalam rentang konsentrasi tertentu jika nilai koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh lebih besar dari 0,9950 (Eurachem, 1998). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa analisis Fe menggunakan SSA memberikan respons linier yang baik dalam rentang 0,0 – 10 ppm.

2. Limit deteksi (LOD)

Uji LOD dilakukan secara statistik dengan menggunakan garis regresi linier dari kurva kalibrasi, di mana tanggapan instrumen y berhubungan linier dengan konsentrasi x . Biasanya, besarnya batas deteksi diwakili dengan $3,3 SD/b$, di mana SD adalah standar deviasi nilai absorbansi hasil pengukuran dan b adalah slope. Dari hasil perhitungan diperoleh batas deteksi (LOD) Fe sebesar 0,08 ppm.

3. Limit kuantifikasi (LOQ)

Batas deteksi (LOD) adalah indikator sensitivitas metode analisis yang merupakan kadar analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon yang signifikan dengan blanko (ICH, 1994).

Uji LOQ dilakukan secara statistik dengan menggunakan garis regresi linier dari kurva kalibrasi, di mana respons instrumen y berhubungan linier dengan konsentrasi x . Biasanya, besar limit deteksi diwakili dengan $10SD/b$, di mana SD adalah standar deviasi nilai absorbansi hasil pengukuran dan b adalah slope. Dari hasil perhitungan diperoleh batas kuantifikasi (LOQ) Fe sebesar 0,27 ppm.

4. Presisi

Ketelitian metode sangat penting untuk memastikan respons instrumen terhadap suatu analit dapat dipertahankan. Dalam penelitian ini, presisi metode analisis diukur melalui repeatability (keterulangan), intermediate precision (presisi antara), dan reproducibility (keseksamaan). Pada penelitian ini, presisi yang dilakukan adalah repeatability dan intermediate precision.

Tabel 1. Hasil Uji Presisi Repeatability Fe

Ulangan	Absorbansi Contoh	Konsentrasi Fe (ppm)
1	0.0143	0.315
2	0.0155	0.352
3	0.0137	0.296
4	0.0137	0.295
5	0.0143	0.314
6	0.0154	0.349
7	0.0149	0.333
8	0.0157	0.360
9	0.0153	0.347
10	0.0144	0.319
n		10
Rata-rata (X)		0.328
SD		0.023
RSD = (SD/X*100)		7.01
CV Horwitz ($2^{1-(0.5 \times \log C)}$)		19.92
2/3 CV Horwitz (%)		12.67

Tabel 2. Hasil Uji Presisi Antara (Intermediate Precision) Besi

Hari Ke-	Konsentrasi rata-rata (ppm)	RSD (n = 10)	2/3 CVHorwitz
1	0.328	7.01	12.67
2	0.332	6.94	12.64
3	0.320	6.88	12.72
Rata-rata	0.327	6.94	12.68

Nilai ketelitian ditentukan dengan menggunakan simpangan baku relatif (RSD). Hasil penelitian menunjukkan rata-rata konsentrasi besi (Fe) dalam sampel telur bebek sebesar 0,328 ppm, dengan nilai RSD sebesar 7,01%. Sedangkan untuk presisi antara, rata-rata konsentrasi Fe tercatat sebesar 0.327 ppm, dengan nilai RSD sebesar 6,94%. Nilai RSD untuk keterulangan dan presisi antara pada analisis Fe dalam sampel telur bebek sudah memenuhi kriteria yang ditetapkan yaitu tidak melebihi 2/3 CVHorwitz. Hal ini menunjukkan bahwa metode analisis besi menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) memiliki ketelitian yang baik dan memberikan hasil analisis yang presis.

5. Akurasi

Ketepatan (akurasi) merupakan suatu besaran yang menyatakan kedekatan hasil pengukuran dengan hasil sebenarnya (standar). Akurasi dinyatakan sebagai persentase perolehan kembali (% recovery) (Riyanto, 2014). Pada uji akurasi dilakukan dengan pengukuran sampel yang telah ditambahkan standar 5 ppm sebanyak 1 mL dengan 10 kali pembacaan sampel. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 2. Pada parameter akurasi didapatkan nilai % *recovery* rata-rata adalah $98,40 \pm 0,84$. Suatu metode dikatakan valid apabila nilai perolehan kembali (*recovery*) dari suatu standar berada diantara 80-110% (FDA, 2001). Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa nilai yang diperoleh dapat diterima karena masih dalam interval syarat keberterimaan dimana nilai % *recovery* yang diperoleh dalam rentang 91,94 – 103,80% yang menunjukkan nilai akurasi yang diperoleh baik.

Tabel 3. Hasil Uji Akurasi dan Recovery Besi

Konsentrasi Sampel (ppm)	Konsentrasi Sampel + Standar (ppm)	Konsentrasi Terukur (ppm)	% Recovery
0.315	1.096	1.093	99.74
0.352	1.127	1.063	94.35
0.296	1.08	1.121	103.8
0.295	1.079	1.067	98.87
0.314	1.095	1.115	101.83
0.349	1.124	1.076	95.72
0.333	1.111	1.079	97.13
0.36	1.133	1.042	91.94
0.347	1.123	1.114	99.24
0.319	1.099	1.114	101.35
Rata-rata	1.1070 ± 0.82	1.0884 ± 0.80	98.40 ± 0.84

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom (AAS), penentuan besi (Fe) dalam telur bebek dengan destruksi basah memiliki hasil uji yang valid, ditunjukkan dari hasil pengukuran nilai parameter-parameter pengukuran yang meliputi linearitas, LOD (*Limit of Detection*) serta LOQ (*Limit of Quantitation*), presisi dan akurasi yang secara keseluruhan memenuhi batas keberterimaan dan dinyatakan valid.

DAFTAR REFERENSI

- Aprilia, A.C. (2018). Validasi Metode Penentuan Nilai Kalori Batu Bara Menggunakan Bom Kalorimeter di Balai Pengujian dan Identifikasi Barang Tipe A Jakarta. Laporan Akhir Studi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Astuti, R. (2019). Kandungan gizi dan manfaat telur bebek bagi kesehatan. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 12(1), 45-52.
- BSN. (2017). SNI ISO/IEC 17025 “Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi”. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Chaiyasit, W., Brannan, R., Chareonsuk, D., & Chanasattru, W. (2019). Properties of chicken and duck egg albumens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 21(1), 19.
- Dedi Fardiaz, dkk. (2023). *Kimia Pangan* (Edisi 3, Hal 5.34). Tangerang Selatan: Universitas Terbuka.
- Djuhariningrum, T., Sarip, U., & Rosiana, I. (2014). Uji validasi metode analisis XRF untuk unsur-unsur Cu dan Th dalam SRM di laboratorium eksplorasi. *Prosiding Seminar Nasional Geologi Nuklir dan Sumber Daya Tambang*. Pusat Teknologi Bahan Galian Nuklir - BATAN.
- Eurachem. (2014). *The fitness for purpose of analytical methods: A laboratory guide to method validation and related topics* (2nd edition). Europe.
- FDA (Food and Drug Administration). (2001). *Guidance for industry: Bioanalytical method validation*. U.S. Department of Health and Human Services.
- Fleming, I., & Williams, D.H. (1996). *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. New York: McGraw-Hill.
- Harmita. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117-135.