

PENGGUNAAN GENERASI HIDRIDA-SPEKTROFOTOMETER SERAPAN ATOM UNTUK PENENTUAN SELENIUM

(Application of Hydride Generation-Atomis Absorption Spectrophotometer
for Selenium Determination)

**Hamzar Suyani, Roza Linda, Edison Munaf dan
Theresia Sita Kusuma**

Jurusan Kimia, F M I P A Universitas Andalas.

ABSTRACT

Selenium is an essential element that might cause a disease in its deficiency, however if present in high concentration might toxic to animals or human. An interesting feature of selenium is very small margin between needed and toxic concentration. Since the physiological and environmental concentration of selenium is very small, a sensitive method is needed for determination of selenium concentration. Therefore a simple hydride generation-atomic absorption spectrophotometric method has been designed. The optimum condition of operations were burner height at position of 8.5, coil/reactor length of 75 cm, fuel flow rate of 3.7 L/min, reagent flow rate of 2.6 mL/min, reagent flow rate of 7.3 mL/min, carrier gas flow rate of 2 L/min, GLS volume of 7.065 mL, NaBH₄ concentration of 4 % in 0.3 mol/L NaOH and HCl concentration of 2.5 mol/L. Relative standard deviation of the method at 2 mg/L selenium was 1.2 % at 6 replicates, and limit detection was 0.12 mg/L. Recovery of 10 mL of 10 mg/L selenium spiked to 40 mL of sea water was found 104.36 %.

PENDAHULUAN

Selenium adalah salah satu unsur esensial yang dibutuhkan tubuh. Kekurangan selenium dapat menimbulkan beberapa penyakit seperti *cardiomyopathi* yang fatal terjadi pada anak-anak dan wanita hamil di China, kardiovaskular, katarak dan asma. Pada hewan selenium diberikan untuk mencegah nekrosis hati (liver necrosis), ketidaksuburan dan

dyostropi. Selenium juga merupakan nutrisi anti oksidan dan bagian dari enzim glutathion peroksidase yang dapat mengurangi konsentrasi radikal-radikal bebas dan mencegah kanker. Tapi kelebihan selenium didalam tubuh dapat bersifat toksik dan menimbulkan gangguan pada lambung, sistim saraf serta menimbulkan dermatitis kronis (Robinson, 1983; Hogberg *et al*, 1986; Ohata *et al*, 1998). Perbedaan jumlah selenium yang dibutuhkan dengan yang bersifat toksik sangat kecil. Untuk mempelajari keberadaan selenium di lingkungan atau makhluk hidup diperlukan suatu metoda yang memiliki ketepatan dan ketelitian yang tinggi.

Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) adalah alat yang telah umum digunakan dalam analisis unsur di laboratorium. Namun untuk beberapa unsur seperti selenium, arsen, telurium, germanium, terdapat masalah pada proses pengabutan dan pengatoman jika sampel langsung diaspirasikan pada alat SSA, dimana gangguan latar belakang pada setiap penentuan sangat besar (Nakahara, 1983).

Telah banyak metoda yang digunakan dalam penentuan konsentrasi selenium. Generasi hidrida adalah salah satu metoda penentuan selenium yang sensitif, cukup sederhana terutama jika digabungkan dengan detektor spektrofotometer serapan atom, dan efektif dalam mengurangi gangguan dari matriks-matriks pengganggu (Bax *et al*, 1986; Agterdenbos *et al*, 1986; Nakahara, 1983). Metoda ini memanfaatkan sifat volatil dari selenium. Peralatan generasi hidrida ini ada tersedia secara komersial namun terbatas pada disain tertentu saja, sehingga peralatan generasi hidrida harus dirancang dan dirakit sendiri sesuai dengan kondisi yang dibutuhkan. Selenium merupakan salah satu unsur yang mudah membentuk senyawa hidrida. Hal ini dapat dimanfaatkan untuk penentuannya dengan detektor SSA. Sebelum diaspirasikan ke alat SSA, selenium terlebih dahulu direaksikan dengan reduktor kuat sehingga menghasilkan senyawa hidrida yang volatil.

Generasi hidrida pertama kali diperkenalkan pada tahun 1970 untuk mengatasi masalah penentuan selenium dan arsen dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom nyala. Serapan optimal kedua unsur tersebut berada dalam daerah UV jauh yaitu 193,7 nm untuk As dan 196,0 nm untuk Se. Gangguan latar belakangnya sangat besar, dimana serapan yang diperoleh hingga 60 % (Nakahara, 1983; Robbins dan Caruso, 1979; Verlinden *et al*, 1981). Dalam perkembangan selanjutnya generasi hidrida ini juga dapat digunakan untuk penentuan unsur lain yang dapat membentuk hidrida yang volatil seperti Sn (SnH_4), Bi (BiH_3), Ge (GeH_4), Pb (PbH_4), Sb (SbH_3) dan Te (TeH_2). Metoda generasi hidrida ini merupakan metoda yang relatif

sederhana, tidak mahal dan gangguan dari matriks lain dapat direduksi (Dedina, 1988).

Penelitian-penelitian mengenai penentuan selenium dengan generasi hidrida ini memperlihatkan perkembangan, baik dari sistem deteksi yang digunakan juga sampel-sampel yang dianalisis. Qin Yu *et al* (1983) menentukan Se, As, Sb, dan Te pada bilangan oksidasi yang berbeda-beda dalam sampel air dengan generasi hidrida-spektroskopi serapan atom setelah terlebih dahulu diprekonsentrasi dan pisahkan dengan kapas yang telah diperlakukan dengan thiol. Batas deteksi yang diperoleh dalam ng/mL dan spesies dengan bilangan oksidasi berbeda dapat dipisahkan. Penelitian mengenai eliminasi gangguan nitrit pada proses reduksi Se (VI) menjadi Se (IV) dilakukan oleh Cutter (1983), didapatkan bahwa sulfanilamid 2% dapat mengeliminasi gangguan nitrit. Cutter (1985) juga melakukan spesiasi selenium dalam partikel-partikel biogenik dan sedimen. Pengaruh konsentrasi NaBH_4 dan gas Hidrogen serta aplikasi penentuan selenium pada sampel batubara telah dipelajari oleh Bax *et al* (1986) dan Agterdenbos *et al* (1986).

Narasaki dan Ikeda (1984) menggunakan NaBH_4 2% dan HCl 6 M untuk menghasilkan hidrida dari selenium. Sebagai detektor digunakan SSA tungku grafit. Semua sistem bekerja secara otomatis. Ion-ion pengganggu dieliminasi dengan resin Chelex-100. Rekoveri diperoleh dari sampel spike 100 % dan batas deteksi 0,4 ng/L.

Penggabungan sistem generasi hidrida dengan plasma pasangan induktif- spektrometri massa telah berhasil dilakukan oleh Buckley *et al* (1992). Konsentrasi selenium dalam sampel jagung, darah, susu, daun jeruk, hati dan serum darah ditentukan dengan kondisi optimum yang diperoleh. Batas deteksi yang diperoleh 6,4 pg.

Pinillos *et al* (1995) melakukan penentuan secara simultan As (III), Sb (III) dan Se (IV) dengan menggabungkan sistem generasi hidrida dan detektor spektrofotometer serapan molekul fasa gas. Sistem generasi hidrida menggunakan Gas Liquid Separator proses ganda. Hidrida yang terbentuk diprekonsentrasi dalam Nitrogen cair (liquid nitrogen cryogenic trap). Pada kondisi optimum diperoleh batas deteksi 22 $\mu\text{g/L}$ untuk As(III), 15 $\mu\text{g/L}$ untuk Sb(III) dan 65 $\mu\text{g/L}$ untuk Se (IV).

Analisis pengenceran isotop dari selenium dalam serum darah menggunakan nitrogen plasma gelombang mikro-spektrometer massa ($\text{N}_2\text{MIP} - \text{IDMS}$) digabung dengan teknik generasi hidrida telah dilakukan oleh Ohata *et al* (1998). Isotop yang digunakan adalah ^{78}Se dan ^{80}Se , yang merupakan isotop utama dari Se. Penggabungan sistem generasi hidrida dengan $\text{N}_2\text{MIP-IDMS}$ memperlihatkan hasil deteksi

yang lebih sensitif dan lebih tepat dibandingkan dengan hasil tanpa menggunakan generasi hidrida. Batas deteksi diperoleh 10 ng/L dan standar deviasi relatif < 1 % pada rentang konsentrasi 5,0 - 10,0 µg/L.

Selain menggunakan sistem generasi hidrida, penelitian mengenai penentuan selenium telah banyak dilakukan dengan berbagai macam metoda. Ferri dan Sangorgio (1996) telah menggunakan voltametri stripping katoda untuk penentuan selenium dalam air sungai. Se (IV) terlebih dahulu diprekonsentrasi dengan resin Chelex-100. Penelitian ini berhasil melakukan spesiasi Se (IV) dan Se (VI) serta dapat membedakan Se (IV) bebas dan terikat yang terlarut dalam sampel. Batas deteksi diperoleh dalam ng/L. Voltametri stripping katoda juga digunakan oleh Mattsson *et al* (1995) guna menentukan selenium total dalam sampel air alam. Untuk mereduksi selenat menjadi selenit dilakukan iradiasi UV. Hasil yang diperoleh dengan metoda ini sesuai dengan hasil penentuan selenium menggunakan sistem GH-SSA dan HCl sebagai pereduksi. Se ditemukan dalam rentang konsentrasi 70 - 190 ng/L serta batas deteksi 2 ng/L. Bryce *et al* (1993) telah menentukan Se (IV) dengan sistem injeksi alir voltametri stripping anoda. Elektroda kerja emas digunakan untuk memprekonsentrasi Se (IV). Gangguan dari kation-kation divalen dihilangkan dengan kolom penukar kation yang dirangkai secara langsung (*on-line*). Standar deviasi relatif yang diperoleh < 4,7 % dengan hasil linear antara 5 - 100 ng/mL.

Plasma pasangan induktif-spektroskopi massa (ICP-MS) digunakan Cai *et al* (1995) dalam penentuan selenium. Untuk pemisahan selenat dan selenit dari matrik pengganggu dalam sampel air, Cai *et al* (1995) menggunakan kromatografi fasa balik pasangan ion dan penukar anion. Diperoleh batas deteksi kromatografi penukar anion lebih rendah dibanding kromatografi pasangan ion. Batas deteksi yang diperoleh adalah 0,16 - 0,42 µg/L untuk Se (IV) dan 0,08 - 0,19 µg/L untuk Se (VI). Disamping sistem kromatografi cair, beberapa peneliti juga telah menggunakan kromatografi gas untuk penentuan selenium (Chau *et al*, 1975 ; Al-Attar dan Nickless, 1990). Batas deteksi yang diperoleh dalam satuan ng/mL. Metoda ini diaplikasikan pada sampel tumbuh-tumbuhan, sedimen dan udara.

Metoda spektrofлуorimetri digunakan oleh Johansson *et al* (1995) serta Kumar dan Krishnaswamy (1997) untuk penentuan selenium. Sampel biologi yang telah didestruksi direaksikan dengan campuran Bromida dan 2,3-diamino-1,4-dibromonaftalen (Br₂-DAN). Hasilnya diekstrak dengan sikloheksana. Fluorisensi diukur pada panjang gelombang 577 nm dengan eksitasi pada 518 nm. Batas deteksi diperoleh 0,6 ng/g (Johansson *et al*, 1995). Kumar dan Krishnaswamy

(1997) mengomplekan selenium dengan 2,3-diaminonaftalen untuk menghasilkan senyawa berfluorisensi. Senyawa ini kemudian diekstrak dengan sikloheksana dan diukur eksitasinya pada 378 nm serta emisi pada 518 nm. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi selenium yang terkandung dalam gandum-gandum, kacang-kacangan dan bumbu rempah di India.

Linares *et al* (1986) dan Aoyama *et al* (1991) telah menggunakan sistem injeksi alir dengan detektor spektrofotometer untuk menentukan selenium. Pada kedua penelitian ini selenium berfungsi sebagai katalis yang mempercepat reaksi menghasilkan senyawa berwarna. Reaksi yang dikatalis adalah reaksi antara klorat dan hidrazin (Linares *et al*, 1986) dan reaksi reduksi 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H tetrazolium bromida (Aoyama *et al*, 1991). Standar deviasi relatif yang diperoleh < 0,5 %.

Karbon yang diaktifasi digunakan oleh Kubota *et al* (1995) untuk mengumpulkan kompleks selenium dan dideteksi dengan SSA tungku grafit. Sebagai pengomplek digunakan larutan bismutiol(II) 0,1 %, yang bekerja dalam suasana asam. Metoda dapat diaplikasikan pada sampel-sampel yang telah terkontaminasi seperti sedimen, air laut dan air danau. Rekoveri diperoleh dalam rentang 80-101%.

Pada makalah ini dilaporkan pemakaian rangkaian generasi hidrida sederhana yang digabung dengan spektrofotometer serapan atom nyala asetilen udara untuk penentuan selenium. Kondisi optimum operasi peralatan serta karakteristik analitik dari metoda ini juga dilaporkan.

BAHAN DAN METODA

BAHAN

Bahan kimia yang digunakan adalah larutan standar selenium 1000 mg/L dalam HCl 1 mol/L, natrium borohidrida (NaBH_4) dari Nacalai Tesque Japan, asam klorida dan natrium hidroksida dari Merck. Deretan larutan standar selenium dibuat dari larutan induk 1000 mg/L dengan pengenceran menggunakan aquadest. Rentang konsentrasi larutan standar adalah 0 - 10 mg/L. Larutan pereduksi NaBH_4 4% (m/v) dibuat dengan melarutkan 4 g NaBH_4 dalam 100 mL NaOH 0,3mol/L. Untuk optimasi variasi konsentrasi NaBH_4 dibuat dalam rentang 1-5 %. Larutan dibuat pada setiap hari penggunaan.

ALAT

Peralatan yang digunakan adalah sebuah spektrofotometer serapan atom (SSA Chem Tech Analytical Alfa 4) dengan lampu katoda Se, sebuah pompa peristaltik mini (Perista Mini pump SJ-1211, PP1), sebuah pompa peristaltik Gilson Minipuls multichannel (PP2), pipa plastik PTFE dengan diameter dalam 0,5 mm sebagai koil, slang tygon untuk pompa peristaltik berdiameter dalam 2 mm, sebuah sistem Gas Liquid Separator (GLS) yang dibuat dari sebuah kolom kaca dengan diameter dalam 1 cm dan panjang 15 cm serta alat-alat gelas yang biasa digunakan. Rangkaian peralatan dan GLS sudah diuraikan pada penerbitan terdahulu (Suyani, *et al* 1999). Kondisi operasi SSA dicantumkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi pengoperasian SSA dalam penentuan selenium.

Panjang gelombang	: 196,0 nm
Arus lampu	: 6 mA
Gain	: 11
Slit	: 3 (0,10 mm)
Oxidant	: Udara (11 L/ menit), dilewatkan melalui supplement

Parameter yang dipelajari

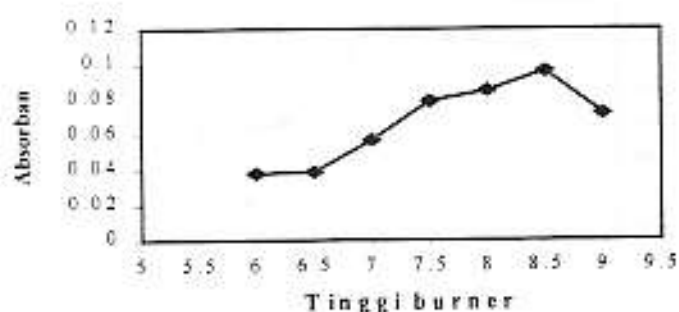
Parameter yang dipelajari untuk mendapatkan kondisi optimum operasi meliputi kecepatan alir gas pembawa dan fuel, kecepatan alir reagen (HCl dan NaBH₄) dan konsentrasinya, panjang reaktor/ koil, tinggi kepala pembakar (burner) dan volume gas dalam GLS. Penentuan nilai-nilai optimum dari masing-masing parameter dilakukan dengan memvariasikan parameter yang akan ditentukan dengan kondisi parameter yang lain konstan. Data yang diambil adalah serapan berupa absorbansi yang langsung tertera pada alat. Karakteristik analitik yang ditentukan adalah rekoveri dengan menggunakan sampel spike (selenium 2 mg/L), Standar Deviasi Relatif, dan Batas Deteksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi burner

Penentuan tinggi burner diperlukan untuk menentukan posisi nyala sehingga daerah dimana terjadi pengatoman tepat dilewati sinar. Semakin tinggi posisi burner maka daerah nyala yang dilewati sinar makin rendah yaitu pada daerah pembakaran primer. Untuk itu

dilakukan optimasi tinggi burner untuk penentuan selenium dengan memvariasikan tingginya dalam rentang posisi 6 - 9 (skala pada alat). Hasilnya diperlihatkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh tinggi burner terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,1 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit, kecepatan reagen 1,6 mL/menit, kecepatan sampel 6,5 mL/menit, kecepatan fuel 4 L/menit.

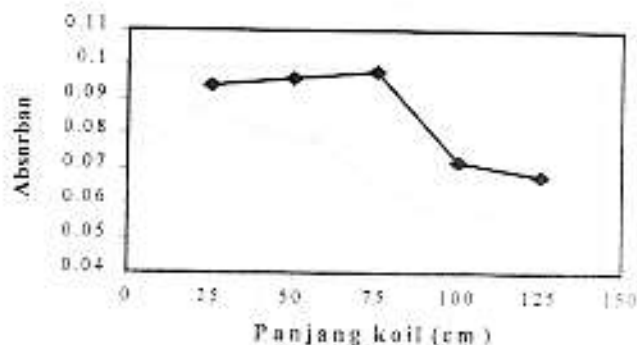
Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa kondisi optimum tinggi burner diperoleh pada posisi 8,5. Pada posisi dibawah dan diatas 8,5 absorban yang diperoleh rendah. Hal ini mungkin disebabkan karena kurang tepatnya daerah pada nyala yang mengandung atom-atom selenium dilewati sinar dari lampu katoda Se sehingga atom-atom Se yang menyerap juga tidak maksimal.

Panjang Koil/ Reaktor

Reaksi reduksi berlangsung dalam koil yang berfungsi sebagai reaktor. Panjang koil/ reaktor mempengaruhi kesempurnaan reaksi reduksi yang terjadi antara reagen dengan analit. Oleh karena itu dilakukan optimasi panjang koil/ reaktor yang digunakan. Panjang koil divariasikan dalam rentang 25 - 125 cm. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada panjang 75 cm diperoleh absorban tertinggi. Panjang koil pendek dari 75 cm memberikan absorban lebih rendah, hal ini mungkin disebabkan karena belum sempurnanya reaksi berlangsung, sedangkan pada panjang diatas 75 cm juga memberikan absorban yang rendah. Panjang koil optimum berbeda dengan optimasi Narasaki *et al* (1984) yaitu 15 cm (diameter dalam 2 mm), juga dengan Ohata *et al* (1998) yang menggunakan koil dengan panjang 50 cm (diameter dalam 1 mm). Perbedaan ini disebabkan oleh kondisi alat dan reagen yang digunakan

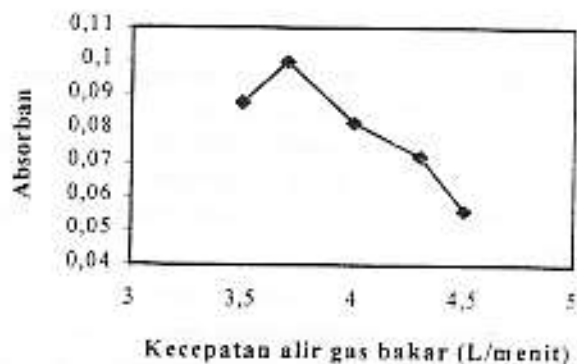
berbeda, terutama kecepatan dan konsentrasi reagen dan sampel serta diameter dan jenis koil yang digunakan.



Gambar 2. Pengaruh panjang koil terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,1 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit, kecepatan reagen 1,6 mL/menit, kecepatan sampel 6,5 mL/menit, kecepatan fuel 4 L/menit.

Kecepatan Alir Fuel / Gas Bakar

Kecepatan alir fuel optimum diperlukan untuk mendapatkan suhu nyala yang sesuai untuk penentuan selenium. Percobaan dilakukan pada variasi kecepatan gas bakar dalam rentang 3,5 - 4,5 L/menit. Hasilnya terlihat dalam Gambar 3.

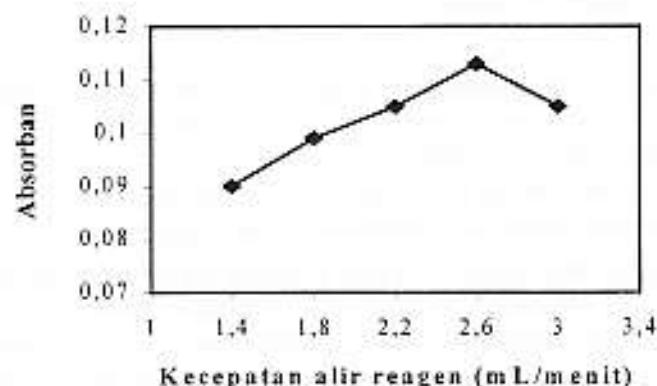


Gambar 3. Pengaruh kecepatan alir gas bakar terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,1 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit, kecepatan reagen 1,6 mL/menit, kecepatan sampel 6,5 mL/menit, panjang koil 75 cm.

Gambar 3 memperlihatkan bahwa kecepatan alir gas bakar yang optimum adalah 3,7 L/menit. Jika kecepatan kecil dari 3,7 L/menit diperkirakan nyala yang terbentuk belum sempurna dimana suhu yang optimal untuk atomisasi selenium belum tercapai. Sedangkan pada kecepatan alir besar dari kondisi optimum juga diperoleh absorban yang lebih rendah karena gas bakar yang berlebih akan menurunkan suhu nyala yang terbentuk.

Kecepatan Alir Reagen

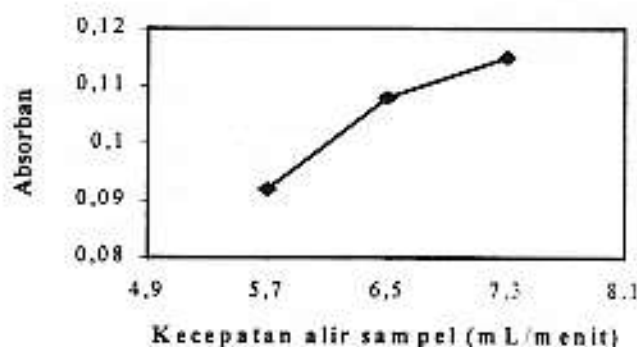
Reagen yang digunakan pada penelitian ini adalah NaBH_4 yang distabilkan dengan NaOH , dan HCl . Keduanya dialirkan oleh pompa yang sama sehingga kecepatan alir kedua reagen juga sama. Kecepatan reagen berbanding lurus dengan volumenya, dan ini mempengaruhi hasil reduksi. Dibutuhkan volume optimum reagen yang mampu mereduksi seluruh analit dalam sampel. Optimasi dilakukan dengan memvariasikan kecepatan alir reagen dalam rentang 1,4 – 3 mL/menit. Absorban tertinggi diperoleh pada kecepatan alir reagen 2,6 mL/menit. Absorban terlihat lebih rendah pada kecepatan alir reagen kecil dari 2,6 mL/menit mungkin disebabkan oleh belum sempurnanya reaksi yang terjadi karena reagen tidak cukup untuk mereduksi seluruh analit dalam sampel. Dan diperkirakan terjadi pengenceran oleh reagen tersebut karena volumenya terlalu besar sehingga pada kecepatan alir reagen besar dari 2,6 mL/menit absorbannya rendah. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh kecepatan alir reagen terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,3 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit, kecepatan sampel 6,5 mL/menit, panjang koiil 75 cm, kecepatan fuel 3,7 L/menit.

Kecepatan Alir Sampel

Seperti halnya kecepatan reagen maka kecepatan sampel juga berbanding lurus dengan volumenya. Volume sampel yang dapat direduksi sempurna oleh reagen perlu diketahui untuk memperoleh hasil yang maksimal. Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan sistem alir kontinu terlihat bahwa kecepatan sampel selalu lebih besar dari reagen. Dengan memvariasikan kecepatan sampel dalam rentang 5,7 hingga 7,3 mL/menit, dipelajari kondisi optimumnya.



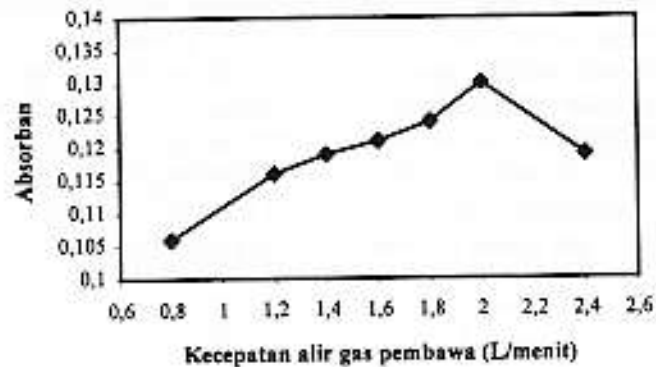
Gambar 5. Pengaruh kecepatan alir sampel terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,3 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit, kecepatan reagen 2,6 mL/menit, panjang koil 75 cm, kecepatan fuel 3,7 L/menit.

Kecepatan alir optimum adalah 7,3 mL/menit. Diperkirakan kurangnya analit yang direduksi reagen karena volume sampel masih kurang mengakibatkan absorban yang diperoleh pada kecepatan alir sampel < 7,3 mL/menit lebih rendah. Kecepatan diatas 7,3 mL/menit tidak dilakukan mengingat keterbatasan alat yang tersedia.

Kecepatan alir sampel 7,3 mL/menit ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan kecepatan alir sampel pada sistem generasi hidrida yang digunakan oleh beberapa peneliti. Ohata *et al* (1998) hanya menggunakan kecepatan 1,0 mL/menit untuk mengalirkan sampelnya, Narasaki *et al* (1986) 2,0 mL/menit dan Bax *et al* (1986) 4 mL/menit. Tapi Pinillos *et al* (1995) menggunakan kecepatan alir sampel sangat besar yaitu 35 mL/menit).

Kecepatan Gas Pembawa

Pada alat SSA, sampel diaspirasikan melalui kapiler yang akan menarik sampel akibat dari udara yang melewati kapiler tersebut. Karena udara pada kapiler tidak digunakan maka dibutuhkan gas pembawa yang berfungsi untuk mendorong hidrida yang terbentuk kedalam nyala, setelah hidrida tersebut dipisahkan dalam GLS. Sebagai gas pembawa pada penelitian ini digunakan udara. Kecepatan gas pembawa mempengaruhi jumlah hidrida yang sampai pada nyala. Untuk memperoleh kecepatan alir yang optimum maka udara sebagai gas pembawa divariasikan kecepatannya dalam rentang 0,8 - 2,0 L/menit. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.



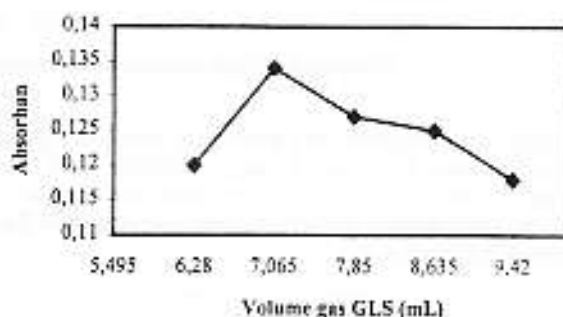
Gambar 6. Pengaruh kecepatan gas pembawa terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,3 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan alir sampel 7,3 mL/menit, kecepatan reagen 2,6 mL/menit, panjang koil 75 cm, kecepatan fuel 3,7 L/menit.

Kecepatan alir gas pembawa optimum adalah 2,0 L/menit. Dibawah kecepatan ini absorban lebih rendah mungkin karena belum sepenuhnya penyapuan hidrida yang terbentuk dari dalam sistem GLS sehingga hidrida yang sampai ke nyala tidak maksimal. Dan diduga terjadi pengenceran oleh gas pembawa karena terlalu banyaknya gas pembawa yang masuk pada GLS dan mendorong hidrida ke nyala menyebabkan rendahnya absorban pada kecepatan gas > 2,0 L/menit. Hasil yang diperoleh sedikit berbeda dengan kecepatan alir gas pembawa yang digunakan oleh Narasaki dan Ikeda (1984) yaitu 2,5 L/menit. Gas pembawa yang digunakan adalah gas nitrogen.

Sistem Gas Liquid Separator / Pemisah Gas-Cairan

Gas Liquid Separator (pemisah gas-cairan) berfungsi untuk memisahkan hidrida yang terbentuk dengan sisa reagen berupa cairan yang mungkin mengandung matriks yang dapat mengganggu pengukuran. Pada GLS, reagen sisa akan turun sebagai buangan, sedangkan hidrida didorong oleh gas pembawa ke nyala. Volume gas pada sistem GLS akan mempengaruhi jumlah hidrida yang akan didorong oleh gas pembawa. Untuk itu perlu dilakukan optimasi volumenya. Aliran reagen sisa diatur pada kecepatan konstan sehingga volume gas pada GLS juga konstan. Dengan memvariasikan tinggi reagen sisa pada GLS, diperoleh volume gas yang berbeda-beda. Tinggi reagen sisa pada GLS berbanding terbalik dengan volume GLS untuk hidrida.

Hasil yang didapat dari variasi volume gas pada GLS dalam rentang 6,28 hingga 9,420 mL memperlihatkan bahwa absorban tertinggi diperoleh pada volume gas 7,065 mL. Pada volume gas kecil absorban yang diperoleh rendah. Hal ini disebabkan oleh belum sempurnanya hidrida yang terbentuk terpisah pada GLS tetapi telah didorong oleh gas pembawa. Jika volume gas semakin diperbesar maka gas pembawa akan mengencerkan hidrida yang ada. Hal ini menyebabkan absorban pada volume gas diatas kondisi optimum absorbannya semakin rendah.



Gambar 7. Pengaruh volume gas pada GLS/pemisah gas-cairan terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,3 mol/L, HCl 2,5 mol/L, kecepatan alir sampel 7,3 mL/menit, kecepatan reagen 2,6 mL/menit, panjang koil 75 cm, kecepatan fuel 3,7 mL/menit, kecepatan gas pembawa 2 L/menit.

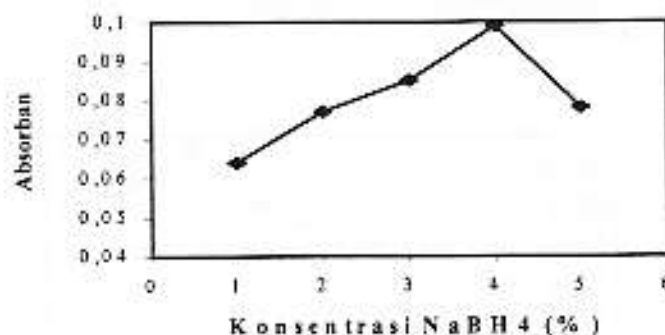
Konsentrasi NaBH_4

NaBH_4 adalah reduktor kuat yang akan mereduksi selenium menjadi hidridanya, melalui H, yang dibentuknya (Dedina, 1988). Untuk

memperoleh hasil reduksi yang sempurna perlu diketahui konsentrasi NaBH_4 yang mampu mereduksi secara optimal. Untuk itu dilakukan optimasi konsentrasi NaBH_4 yang divariasikan dalam rentang konsentrasi 1 – 5 % (m/v).

Gambar 8 memperlihatkan bahwa konsentrasi NaBH_4 4% memberikan absorban tertinggi, ini berarti bahwa NaBH_4 4% dapat mereduksi selenium secara sempurna. Pada konsentrasi yang lebih rendah diperkirakan reaksi reduksi belum sempurna sehingga absorban juga rendah, dan jika konsentrasi NaBH_4 tinggi diperkirakan gas H_2 yang merupakan hasil sampingan dari proses reduksi semakin banyak, dan ini mengakibatkan jumlah hidrida terbentuk yang masuk ke detektor per satuan waktu menjadi semakin sedikit. Disamping itu menurut Bax *et al* (1986) dan Dedina (1988) H_2 juga dapat menghambat proses pengatoman H_2Se .

Konsentrasi NaBH_4 4% juga telah digunakan oleh beberapa peneliti untuk membentuk selenium hidrida. (Cutter, 1983; Pinillos, 1995). NaBH_4 yang lebih rendah digunakan oleh peneliti lain dimana konsentrasinya berada dalam rentang 0,3 – 2 %. Perbedaan ini disebabkan oleh kondisi parameter fisika dan kimia yang digunakan juga berbeda.



Gambar 8. Pengaruh konsentrasi NaBH_4 terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, HCl 3 mol/L, kecepatan alir sampel 6,5 mL/menit, kecepatan reagen 1.6 mL/menit, panjang koil 100 cm, kecepatan fuel 4 mL/menit, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit.

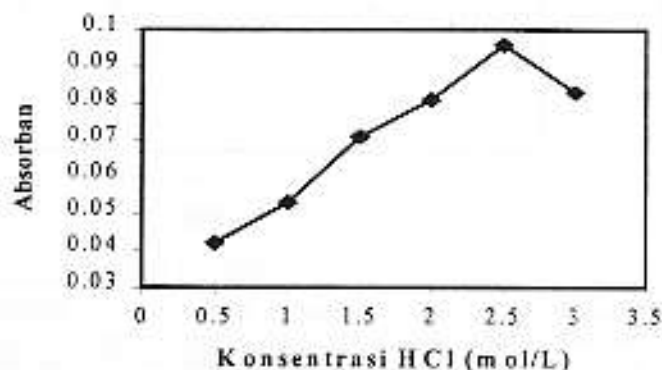
Konsentrasi HCl

Pada persamaan reaksi reduksi NaBH_4 , dapat dilihat bahwa NaBH_4 membentuk H_2 dalam suasana asam. Untuk selenium, asam yang

sering digunakan adalah HCl karena hasil yang diperolehnya lebih baik dibanding asam yang lainnya (Dedina, 1988). Untuk mengoptimalkan kerja reduksi NaBH_4 ditentukan kondisi asam yang benar-benar tepat. Hal ini dapat dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi HCl yang digunakan.

Dari variasi konsentrasi HCl antara 0,5 - 3,0 mol/L yang dilakukan, dipilih konsentrasi 2,5 mol/L sebagai kondisi asam berdasarkan absorbansi yang diperolehnya (Gambar 9). Konsentrasi HCl dibawah 2,5 N absorbansinya menurun, hal ini mungkin disebabkan karena belum optimumnya suasana asam yang dibutuhkan oleh reduktor NaBH_4 dalam menghasilkan H₂ sehingga reaksi reduksi belum sempurna. Diperkirakan HCl terlebih dahulu telah bereaksi dengan NaOH. Pada konsentrasi HCl tinggi absorbansi yang diperolehnya juga rendah karena kondisi asam terlalu tinggi.

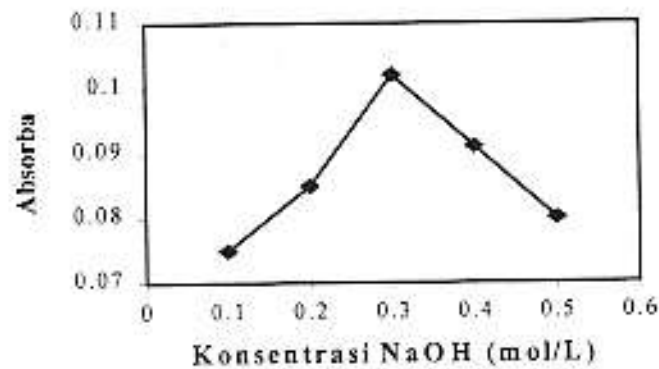
Konsentrasi HCl yang diperoleh sedikit rendah dibandingkan dengan HCl yang digunakan oleh Qing Yu *et al* (1983) yaitu 3,0 mol/L. Konsentrasi yang lebih tinggi telah digunakan oleh Branch dan Hutchison (1985), yaitu 4 mol/L, Ohata *et al* (1998) 5 mol/L, Narasaki dan Ikeda (1984) 6 mol/L. Namun Pinillos *et al* (1995) hanya menggunakan HCl 0,5 mol/L pada penelitiannya. Perbedaan konsentrasi HCl ini disebabkan oleh karena konsentrasi NaBH_4 yang digunakan juga berbeda.



Gambar 9. Pengaruh konsentrasi HCl terhadap besarnya absorbansi. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,1 mol/L, kecepatan alir sampel 6,5 mL/menit, kecepatan reagen 1,6 mL/menit, panjang koil 100 cm, kecepatan fuel 4 mL/menit, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit.

Konsentrasi NaOH

NaBH_4 tidak stabil dalam air, oleh karena itu digunakan NaOH atau KOH dalam konsentrasi rendah untuk menstabilkannya (Dedina,1988; Nakahara,1983; Robbins dan Caruso,1979). Untuk memperoleh kondisi NaBH_4 yang stabil dilakukan optimasi konsentrasi NaOH dengan konsentrasi divariasikan antara 0,1 - 0,5 mol/L. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pengaruh konsentrasi NaOH terhadap besarnya absorban. Konsentrasi selenium 5 mg/L, NaBH_4 4 %, HCl 2,5 mol/L, kecepatan alir sampel 6,5 mL/menit, kecepatan reagen 1,6 mL/menit, panjang koil 100 cm, kecepatan fuel 3,7 L/menit, kecepatan gas pembawa 0,8 L/menit.

Konsentrasi NaOH 0,3 mol/L memberikan absorban tertinggi dan dipilih sebagai penstabil NaBH_4 . Jika konsentrasi NaOH < 0,3 mol/L kestabilan NaBH_4 belum optimum sehingga hasil reduksinya tidak maksimal dan absorban yang diperolehnya rendah. Menurut Verlinden *et al* (1981) dan Dedina (1988) konsentrasi NaOH yang terlalu tinggi akan meningkatkan viskositas NaBH_4 . Hal ini akan mengurangi ketepatan pengukuran karena homogenisasi reagen dan sampel tidak sempurna. Hasil yang diperoleh memperlihatkan absorban yang lebih rendah pada konsentrasi NaOH diatas 0,3 mol/L.

Konsentrasi NaOH 0,3 mol/l juga telah digunakan oleh Ohata *et al* (1998) sebagai penstabil NaBH_4 . Branch dan Hutchison (1985) menggunakan NaOH 1 mol/L, dan Cutter (1983) menstabilkan dengan NaOH konsentrasi sangat rendah, 0,08 mol/L. Selain NaOH, KOH juga telah digunakan sebagai stabilisator NaBH_4 (Narasaki dan Ikeda, 1984). Perbedaan konsentrasi NaOH ini dipengaruhi oleh konsentrasi dan produk NaBH_4 .

Batas Deteksi, SDR dan Rekoveri

Kurva kalibrasi standar selenium dibuat dari deretan konsentrasi selenium 0 - 10 mg/L menggunakan kondisi optimum yang telah diperoleh dan menggunakan program *interpolasi spline* yaitu program analisa data SSA yang ada pada komputer. Kurva linear pada konsentrasi dibawah 4 mg/L, sedangkan pada konsentrasi lebih tinggi dari 4 mg/L terlihat kurva cenderung melengkung dan semakin mendatar. Ini berarti bahwa pada konsentrasi dibawah 4 mg/L merupakan daerah rentang konsentrasi linear. Standar selenium 2 mg/L digunakan untuk penentuan standar deviasi relatif (SDR) dengan melakukan 6 kali ulangan. SDR yang diperoleh adalah 1,2 %.

Standar deviasi relatif dengan cara langsung tanpa sistem generasi hidrida pada selenium 10 mg/L adalah 5,38 %. Dari SDR yang diperoleh terlihat bahwa sistem GH-SSA untuk penentuan selenium lebih baik ketepatan ulangnya dibanding sistem aspirasi langsung.

Batas deteksi pada 3 o dari 15 kali pengukuran blanko diperoleh 0,12 mg/L. Dengan sistem aspirasi langsung batas deteksi yang diperoleh lebih tinggi yaitu 4,87 mg/L. Ini berarti bahwa penentuan selenium dengan sistem generasi hidrida lebih sensitif dibandingkan dengan penentuan secara langsung.

Rekoveri ditentukan dengan menggunakan sampel spike. Rekoveri diperoleh dari perbandingan konsentrasi sampel spike dengan jumlah konsentrasi standar dan konsentrasi sampel yang telah dikali dengan faktor pengenceran. Pada sampel air laut dispike dengan standar 2 mg/L. Sej 10 mL Se 10 mg/L diencerkan dengan sampel pada labu 50 mL dan diperoleh rekoveri 104,36 %. Rekoveri lebih dari 100 % ini memperlihatkan bahwa adanya komponen atau matrik pengganggu dalam sampel.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan tentang penggunaan generasi hidrida- spektrofotometer serapan atom dalam penentuan selenium ini, dapat diambil kesimpulan bahwa kondisi optimum dari sistem GH-SSA untuk penentuan selenium yang diperoleh adalah: konsentrasi NaBH_4 4 % dalam NaOH 0,3 mol/L, HCl 2,5 mol/L, tinggi burner 8,5, panjang koil 75 cm, kecepatan alir fuel 3,7 L/menit, kecepatan alir reagen 2,6 mL/menit, kecepatan alir sampel 7,3 mL/menit, kecepatan gas pembawa 2 L/menit dan volume gas pada GLS 7,065 mL.

Penentuan selenium dengan sistem GH-SSA ini lebih sensitif dan lebih tepat dibandingkan dengan penentuan selenium langsung tanpa sistem generasi hidrida. Hal ini dapat dilihat dari batas deteksi GH-SSA (0,12 mg/L) yang lebih rendah dibanding batas deteksi secara langsung yaitu 4,87 mg/L dan SDR dari GH-SSA (1,2 % untuk Se 2 mg/L) lebih baik dari SDR aspirasi langsung yaitu 5,38% untuk Se 10 mg/L. Hal ini juga dapat dilihat dari konsentrasi deretan standar yang digunakan untuk penentuan secara langsung lebih tinggi dari deret standar GH-SSA karena pada konsentrasi yang lebih rendah SSA tidak dapat mendeteksi selenium yang diaspirasikan secara langsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Agterdenbos, J., J.T. Van Elteren., D. Bax and J.P. Ter Heege. 1986. The determination of selenium with hydride generation AAS, *Spectrochim Acta*, **41 B** : 303 - 316.
- Al-Attar, A.F and G. Nickless. 1990. Determination of selenium by gas chromatography and comparison with graphite furnace AAS, *Analyst*, **115** : 1441 - 1446.
- Aoyama, E., N. Kobayashi., M. Shihata., T. Nakagawa and H. Tanaka. 1991. Determination of selenium by flow injection analysis based on the Se (IV) catalyzed reduction of 3- (4,5- dimethyl- 2- thiazoly)- 2,5- diphenyl- 2 H tetrazolium bromide, *Science*, **7** : 103 - 107.
- Bax, D., F.F. Petters., J.P.M. Van Noort and J. Agterdenbos. 1986. The determination of selenium with hydride generation AAS, *Spectrochim. Acta*, **41 B** : 275 - 282.
- Bryce, D.W., A. Izquierdo., and M.D. Laque De Castro. 1995. Flow injection anodic stripping voltametric at a gold electrode for selenium (IV) determination, *Anal. Chim. Acta*, **308** : 96 - 101
- Buckley, W. T., J. J. Budac., D. V. Godfrey and K. M. Koenig. 1992. Determination of selenium by inductively couple plasma - mass spectrometry utilizing a new hydride generation sample introduction system, *Anal. Chem.*, **64** :724 - 729.
- Cai, Y., M. Cabanas., J. L. Fernandes., M. Abalas, and J. M. Bayono. 1995. Online preconcentration of selenium (IV) and selenium (VI) in aqueous matrices followed by liquid chromatography-ICP-MS determination, *Anal. Chim. Acta*, **314** : 183 - 192.

- Chau, Y.K., P. T. S. Wong and P. D. Goulden. 1975. Gas chromatography-atomic absorption method for the determination of dimethyl selenide and dimethyl diselenide, *Anal. Chem.*, **47** : 2279 - 2281.
- Cutter, G. A. 1983. Elimination of nitrite interference in the determination of Se by Hydride Generation, *Anal. Chim. Acta*, **149** : 391-394
- Cutter, G. A. 1985. Determination of selenium species in biogenic particles and sediments, *Anal. Chem.*, **64** : 724 - 729.
- Dedina, J. 1988. Evaluation of hydride generation and atomization for AAS. *Prog. Analyt. Spectrosc.*, **11** : 259 - 260.
- Ferri, T. and P. Sangiorgio. 1996. Determination of selenium species in river water by adsorption on iron (III) - Chelex - 100 resin and differential pulse cathodic stripping voltametric, *Anal. Chim. Acta*, **321** : 185 - 193
- Hogberg, J and J. Alexander. 1986. *Handbook of Toxicology of Metals*, 2nd Ed., Editor L.Friberg, G.F. Nordberg dan V. Vouk, Elsevier Science Publisher B.V : 483-513.
- Johansson, K., Xiaoguang Luo, and Ake Olin. 1995. Rapid One Step derivatization of Se (VI) to a selenenol for the spectrofluorimetric determination of selenium in biological material, *Talanta*, **42** : 1979 - 1987.
- Kubota, T., K. Suzuki and T. Okutani . 1995. Determination of total selenium contents in sediment and natural water by graphite furnace AAS after collection as a selenium (IV) complex on activated carbon, *Talanta*, **42** : 949 - 955.
- Khumar, A and K. Krishnaswamy. 1997. Selenium content of common Indian cereals, Pulses and spices, *J. Agric. Food Chem.*, **45** : 2565.
- Linares, P., M. D. Luque de Castro and M. Valcarcel. 1986. Spectrophotometric determination of Se (IV) and Se (VI) with flow injection, *Analyst*, **111**: 1405 - 1407.
- Mattsson, G., L. Nyholm., A. Olin and V. Ormemark. 1995. Determination of selenium in fresh water by cathodic stripping voltametry after UV irradiation, *Talanta*, **42** : 817 - 825.
- Nakahara, T. 1983. Applications of HG Techniques in AAS, AFS, and AES, *Prog. Anal. Spectrosc.*, **6** : 166 - 170.
- Narasaki, H and M. Ikeda . 1984. Automated determination of arsenic and selenium by AAS with hydride generation , *Anal. Chem.*, **56** : 2059 - 2063.
- Ohatta, M., T. Ichinose and N. Furuta. 1998. Isotope dilution analysis of Se in human blood serum by using High-power Ni MIP-MS coupled with Hydride Generation technique, *Anal. Chem.*, **70**: 2726-2730.
- Pinillos, S. C., J. S. Asensio and J. G. Bernal. 1995. Simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium by gas phase diode array molecular absorption spectrometry after preconcentration in a cryogenic trap, *Anal. Chim. Acta*, **300** : 321 - 327.

- Qin Yu, M., G. Qin Liu and Q. Jin. 1983. Determination of trace As, Sb, Se, and Te in various oxidation states in water by Hydride Generation and AAS after enrichment and separation with thiol cotton, *Talanta*, **30**: 265-270
- Robbins, W.B and J. A. Caruso. 1979. Development of Hydride Generation Methodes for Atomic Spectroscopic Analysis, *Anal. Chem.*, **51** : 890A-899A
- Robinson, M.F. 1983. The role selenium in the diet, *Nutrr., Abst. Rev.*, **53** : 3.
- Suyani, H., R. Linda, T. S. Kusuma, dan E., Munaf. 1999. Metoda Generasi Hidrida-Spektrofotometri Serapan Atom Untuk Penentuan Timbal, *Jurnal Kimia Andalas*, **5(2)**: 80-92
- Verlinden , M., H. Deelstra dan E. Adriaenssens. 1981. The determination of selenium By Atomic Absorption Spectrometry; a review, *Talanta*, **28** : 637-646.