

ANALISIS MERKURI DENGAN MENGGUNAKAN METODE PENGUAPAN DINGIN (CVG) CAMPURAN LARUTAN YANG MENGALIR SECARA TERUS MENERUS

DARMONO¹, J.W. STEINER² dan AGUS SAFUAN¹

¹Balai Penelitian Veteriner, Bogor

²Animal Research Institute, Brisbane, Australia

(Diterima untuk publikasi 29 September 1989)

ABSTRACT

Analysis of mercury in the animal tissue is important in order to diagnose mercury poisoning in animals or in man as the consumer. Mercury analysis method was performed by using cold vapour generation added with flameless atomic absorption spectrophotometer. The accuracy of the result was better and easier to compare with other methods which were previously used. The results of the analysis of tissue with various concentrations of mercury were recovered between 80–96.8%, and at the dose rate of 50–1,000 µg/kg of mercury the percentage recoveries were 92–96.8%.

ABSTRAK

Analisis merkuri dalam jaringan hewan sangat penting untuk mendiagnosis keracunan logam ini, baik pada hewan itu sendiri maupun orang yang memakannya. Metode analisis merkuri telah dicoba dengan menggunakan penguapan dingin campuran larutan yang mengalir secara terus menerus dalam spektrofotometer serapan atom tanpa nyala. Hasil analisis lebih baik bila dibandingkan dengan cara lain yang telah dikerjakan di Balitvet. Uji penemuan kembali dari jaringan yang diberi dosis merkuri tertentu menghasilkan 80–96,8% ditemukan kembali. Dosis merkuri yang terdeteksi secara baik dalam uji penemuan kembali adalah pada penambahan merkuri antara 50–1.000 µg/kg dengan hasil 92–96,8% yang ditemukan kembali.

PENDAHULUAN

Analisis kandungan merkuri di dalam jaringan ikan dan hewan yang dikonsumsi manusia menjadi sangat penting, setelah terjadi efek negatif pada orang yang memakannya. Tragedi terbesar terjadi di teluk Minamata di Jepang pada tahun 1953. Orang yang tinggal di sekitar Provinsi Kumamoto menderita penyakit dengan gejala inkoordinasi syaraf dan ataksia, kemudian pada anak-anak terjadi penghambatan pertumbuhan, deformitas tulang disertai dengan kemunduran mental (Nitta, 1972; Harada, 1978). Sejak saat itulah analisis merkuri dalam jaringan hewan menjadi penting dan berkembang dalam berbagai metode.

Logam merkuri (Hg) adalah logam yang secara alami berjumlah sedikit sekali dalam jaringan hewan ataupun tanaman. Logam tersebut sangat mudah sekali menguap, sehingga dalam perlakuan untuk analisis sangat dibedakan dengan logam-logam lain. Berbagai cara analisis logam ini telah banyak dilaporkan, baik dengan cara sederhana maupun dengan menggunakan alat-alat yang canggih. Stainton (1971), memperkenalkan cara analisis merkuri dengan menggunakan metode "cuvete injection" dalam "flameless AAS". Littlejohn *et al.* (1976) mengukur jumlah kan-

dungan merkuri dan senyawa anorganiknya di dalam urine dengan cara "cold vapour AAS", sedangkan sebelumnya, Magos (1972) mengukur jumlah kandungan merkuri organik dan anorganik di dalam darah.

Cara analisis Hg dalam tulisan ini adalah modifikasi dari Narashaki dan Ikeda (1984), dengan pemasangan sendiri alat-alat seperti pompa peristaltik, pipa plastik, saluran gas nitrogen yang terpisah dua dan gelas kaca pemisah gas dan cairan. Cara analisis ini sangat berguna, mengingat cara ini mudah dan relatif murah.

BAHAN DAN CARA

Alat-alat

Untuk digesti sampel

- Tabung digesti berdiameter 29 mm, panjang 300 mm dan volume 100 ml;
- Kondensor, panjang sekitar 200 mm;
- Blok digesti yang cocok untuk tabung digesti.

Untuk analisis logam

- Pipa tembaga kecil untuk menyalurkan gas nitrogen secara terpisah;

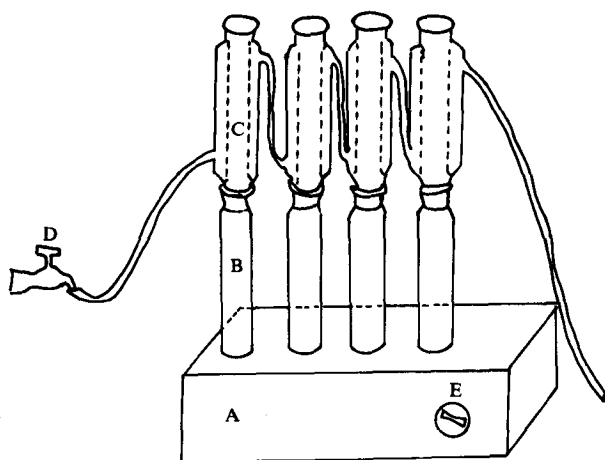
- Pipa plastik tahan asam dengan kekuatan penghisapan (flow rate):
 - 1 ml/menit dua pipa;
 - 6 ml/menit satu pipa;
 masing-masing panjangnya sekitar 20 cm;
- Pompa peristaltik yang mempunyai as roda 10 buah dan bisa diatur kecepatan berputarnya;
- Kumparan (coil) pipa plastik polietilen;
- Gelas kaca untuk memisahkan gas dan cairan;
- Pipa kaca berjendela (Hg).

Bahan Kimia

- Asam klorida (10 M);
- Asam nitrat;
- Stanous khlorida 25%;
- Persediaan standar Hg 1.000 ppm → 1 ppm;
- Standar untuk AAS 5, 10, 15 ppb Hg;
- Gas nitrogen.

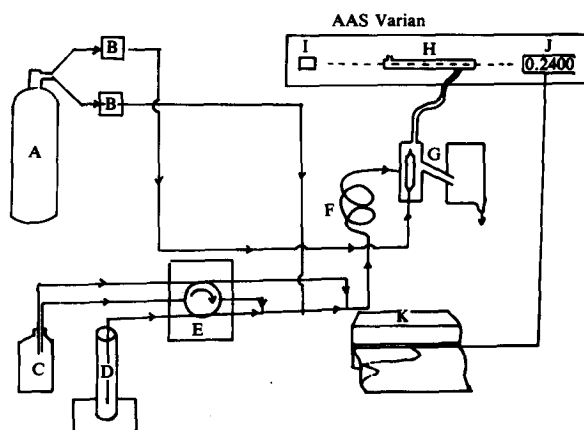
Cara Kerja

Sampel didigesti dengan larutan HNO_3 pekat (90%). Sampel ditimbang terlebih dahulu, baik dalam keadaan kering (dry weight) maupun dalam keadaan basah (wet weight), yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung digesti dan ditambahkan sekitar 10 ml larutan asam digesti dan kemudian dimasukkan ke dalam blok digesti dengan panas sekitar 120°C . Tabung digesti disambung dengan kondensor yang telah dialiri air dan diharapkan uap yang keluar akan kembali ke dalam tabung (lihat Gambar 1).



Gambar 1. Cara digesti jaringan hewan dengan asam nitrat dan menggunakan kondensor. A = blok pemanas, B = tabung digesti, C = kondensor pendingin, D = kran air, E = pengatur panas

Periksa semua pipa penghisap peristaltik, usahakan memakai dua pipa kecil, masing-masing harus sekitar 1 ml/menit dan kedua pipa kecil tersebut digunakan untuk menghisap cairan reduksi stanous khlorida. Untuk pipa besar yang digunakan untuk menghisap larutan standar atau untuk larutan sampel harus mampu menghisap larutan sekitar 6 ml/menit. Skema dari mekanisme penghisapan larutan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Skema cara pembacaan larutan sampel dan standar dalam metode analisis ini dalam mesin AAS. A = tabung nitrogen, B = pengatur tekanan gas nitrogen, C = larutan SnCl_2 , D = larutan standar/sampel, E = pompa peristaltik, F = kumparan pipa polietilen, G = sparator gas-cairan, H = tabung kaca berjendela, I = lampu Hg, J = rekorder digital, K = rekorder grafik printer

Mesin spektrofotometer varian AA 1275 digunakan dalam analisis ini, dengan kekuatan lampu 4 mA, panjang gelombang 253,7 dan slit 0,5. Dalam percobaan ini, dianalisis sampel berupa daging ikan dan udang dalam keadaan kering ataupun segar. Sampel diperoleh dari pasar dan super market (Tabel 1).

Semua sampel didigesti dengan asam nitrat pekat pada suhu 120°C selama lebih kurang 4 jam. Di sam-

Tabel 1. Jenis sampel, kondisi dan asalnya yang dicoba dianalisis dengan metode AAS

Sampel	Spesies	Kondisi	Asal
Bandeng	<i>Chanos chanos</i>	Basah	Pasar Bogor
		Kering	Pasar Bogor
Kakap	<i>Calacariferus sp.</i>	Kering	Super market
Udang	<i>Penaeus sp.</i>	Kering	Super market
		Kering	Tambak

ping itu, dilakukan juga uji penemuan kembali (recovery) dengan penambahan logam merkuri dengan kadar yang berbeda. Sampel kemudian dilarutkan dalam air suling ganda (aquabidest) sampai dengan volume 50 ml dan dibaca dalam spektrofotometer serapan atom (AAS varian 1275).

HASIL

Dengan metode ini, analisis merkuri dalam jaringan hewan menjadi lebih mudah dan lebih akurat. Tabel 2 menunjukkan uji penemuan kembali (recovery) dengan hasil di atas 80% ditemukan kembali,

Tabel 2. Hasil uji penemuan kembali (recovery) dari sampel ikan bandeng yang ditambah dengan beberapa dosis konsentrasi Hg

Dosis penambahan ($\mu\text{g/Kg}$)	Ditemukan ($\mu\text{g/Kg}$)	Recovery (%)
0	15,93	0
25	35,21	80
50	61,61	92
75	88,02	96
0	16,08	0
500	500,0	96,8
1.000	963,3	94,7
1.500	1.300,0	85,6

Tabel 3. Kandungan merkuri dalam sampel ikan dengan metode AAS

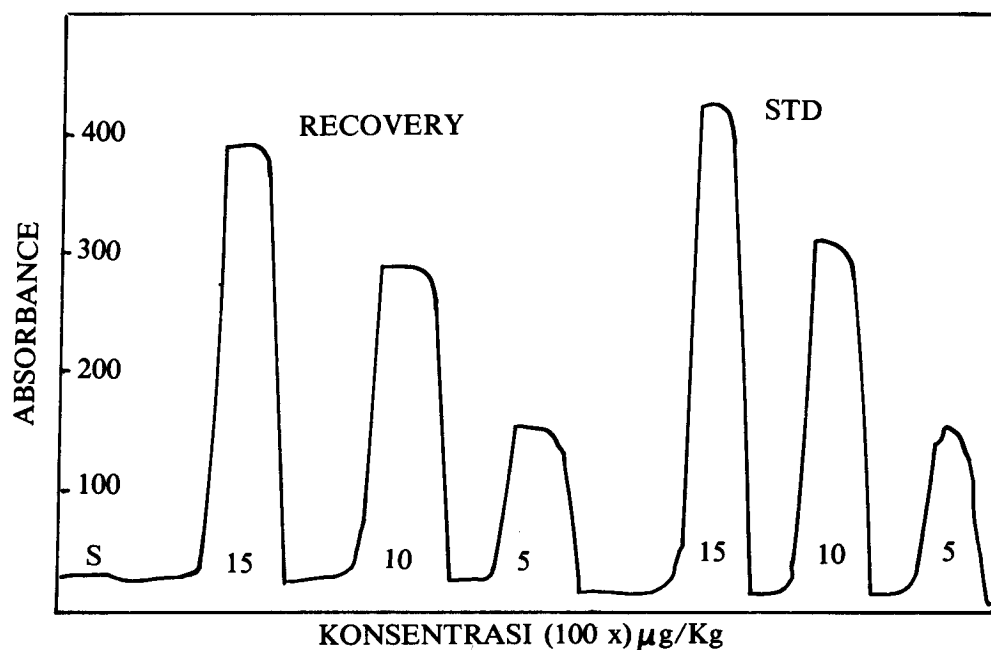
Sampel	n	Spesies	Kondisi	Hasil ($\mu\text{g/Kg Hg}$) ($\bar{x} \pm \text{SE}$)
Bandeng	8	<i>Chanos chanos</i>	Basah	$21,87 \pm 4,72$
Kakap	4	<i>Calcariferus</i> sp.	Kering	$1.255,15 \pm 85,92$
Udang	7	<i>Penaeus</i> sp.	Kering	$32,44 \pm 18,12$
Udang	3	<i>Penaeus</i> sp.	Kering	$73,21 \pm 40,76$

sedangkan Tabel 3 menunjukkan hasil kandungan logam merkuri dalam daging ikan dan udang yang diambil dari pasar, super market dan tambak.

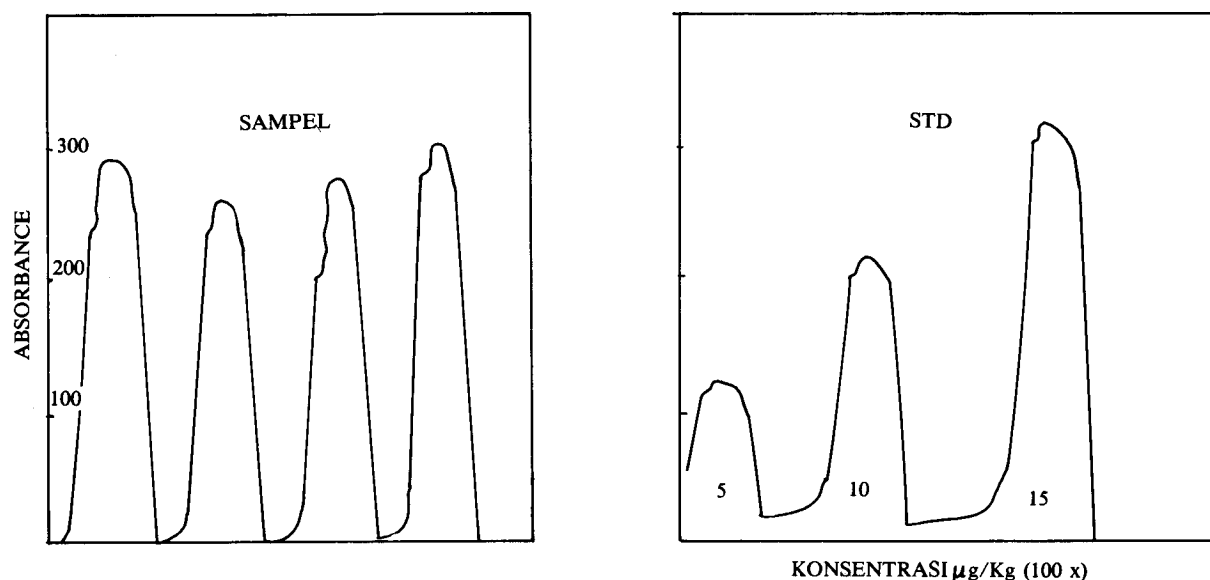
Dengan rekorder grafik printer yang dihubungkan langsung dengan mesin AAS, maka terlihat kurve yang menarik, karena sedikitnya variasi (Gambar 3 dan 4). Pada kedua gambar tersebut terlihat ada perbedaan penghisapan volume sampel, yaitu pada Gambar 3 volume sampel 7 ml/menit, sedangkan pada Gambar 4 volume sampel 6 ml/menit.

PEMBAHASAN

Analisis logam merkuri berlainan dengan logam lain, baik cara digesti maupun pembacaannya dalam mesin AAS. Hal ini disebabkan oleh bentuk fisik dari



Gambar 3. Hasil pembacaan larutan standar dan recovery yang terbaca dalam rekorder grafik printer



Gambar 4. Hasil pembacaan larutan standar dan sampel yang dibaca dalam rekorder grafik printer

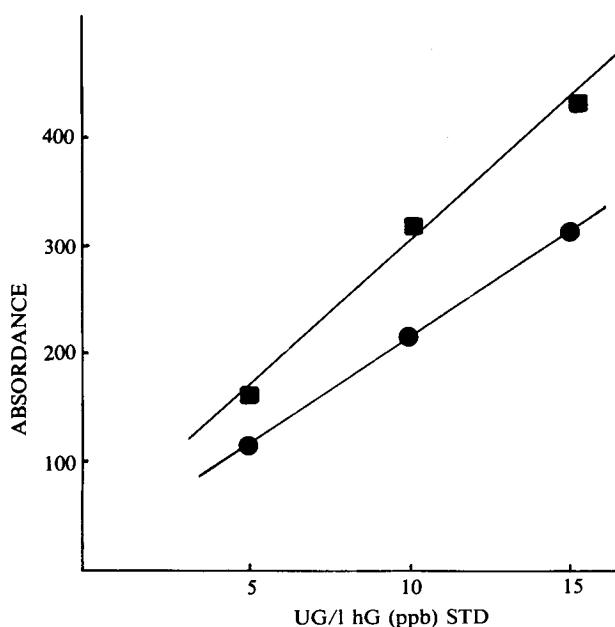
logam tersebut yang juga berlainan, yaitu bentuk cair dalam suhu kamar. Di samping itu, logam ini juga gampang sekali menguap, sehingga kemungkinan kehilangan logam tersebut pada waktu digesti sangat besar.

Selain dalam bentuk logam ion, merkuri juga dapat dianalisis dalam bentuk senyawa organik merkuri metil, baik dengan AAS (Kacprzak dan Chvojka,

1976) maupun dengan khromatografi gas (Newsome, 1971; James, 1983; Alvarez *et al.*, 1984). Analisis yang dikerjakan di sini adalah untuk mengukur merkuri, baik bentuk ion maupun yang berikatan dengan bahan organik. Dalam peristiwa ini terjadi proses atomisasi pada tabung berjendela oleh reaksi reduksi dari garam stanous khlorida (SnCl_2).

Sebelum menggunakan metode penguapan dingin dari larutan yang mengalir secara terus menerus, di laboratorium Balitvet dilakukan analisis Hg dengan metode "vapour generation accessory" (Greenwood *et al.*, 1977; Ng *et al.*, 1987). Metode tersebut cukup teliti, tetapi variasi waktu penguapan cairan sangat terbatas, sehingga variasi hasil yang diperoleh cukup besar. Dengan metode yang dilakukan sekarang ini, waktu penguapan hasil reduksi tidak terbatas dan konstan, sehingga hasilnya menunjukkan variasi yang kecil. Hanya saja, cairan yang terhisap dari ketiga pipa plastik (Gambar 2) harus diawasi betul-betul dan harus selalu konstan untuk setiap hasil analisis. Apabila ada perbedaan volume penghisapan cairan sampel/standar, akan diperoleh hasil hisapan yang berbeda (Gambar 5).

Dalam hasil uji penemuan kembali, terlihat bahwa pada pemberian dosis antara 50 sampai dengan 1.000 $\mu\text{g/kg}$ Hg hasilnya di atas 90% ditemukan kembali, sedangkan pada pemberian dosis 25 dan 1.500 $\mu\text{g/kg}$ Hg hanya ditemukan masing-masing 80 dan 85,6% Hg. Mungkin hal ini disebabkan oleh hilangnya sebagian merkuri pada waktu digesti, sehingga dapat disimpulkan sementara bahwa pada uji penemuan kem-



Gambar 5. Perbedaan besarnya absorbance yang dibaca dalam mesin AAS terhadap besarnya volume cairan standar yang dihisap
● = 6 ml/menit, ■ = 7 ml/menit

bali disarankan untuk memberikan dosis antara 50 – 1.000 µg/kg Hg.

Dari hasil penggunaan metode ini, terlihat bahwa analisis merkuri dalam jaringan hewan menjadi lebih mudah dan teliti. Walaupun pengawasan terhadap volume cairan yang mengalir per menit perlu ketepatan, tetapi hal tersebut mudah dilakukan sebelum analisis betul-betul dimulai.

DAFTAR PUSTAKA

- ALVAREZ, G.H., S.H. HIGHT dan S.G. CAPAR. 1983. Evaluation of electron capture gas chromatographic method for determination of methyl mercury in freezer-case seafoods. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* 67 (4): 715-717.
- GREENWOOD, M.R., P. DHAMIR dan T.W. CLARKSON. 1977. Epidemiology experience with Mago's reagents in the determination of different forms of mercury in biological samples by flameless atomic absorption. *J. Anal. Toxicol.* 1: 265-269.
- HARADA, M. 1978. Methyl mercury poisoning due to environmental contamination (Minamata disease). 261-301. *Dalam: Toxicity of Heavy Metal in The Environment*. Part 1. Oehme (ed), Marcel Dekker Inc New York.
- JAMES, T. 1983. Gas liquid chromatographic screening method for determination of methyl mercury in tuna and sword fish. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 66 (1): 128-129.
- KACPRZAK, J.L. dan R. CHJOVKA. 1976. Modified determination of methyl mercury in fish by flameless atomic absorption spectroscopy comparison with an acid digestion method for total mercury. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 59 (1): 153-157.
- LITTLEJOHN, D., S.F. GORDON dan J.M. OTTAWAY. 1976. Modified determination of total and inorganic mercury in urine by cold vapour atomic absorption spectrometry. *Clin. Chem.* 22 (10): 1719-1723.
- MAGOS, L. 1972. Atomic absorption determination of total, inorganic, and organic mercury in blood. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 55 (5): 966-971.
- NARASHAKI, H., dan M. IKEDA. 1984. Automated determination of arsenic and selenium by atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Anal. Chem.* 56 (12): 2059-2063.
- NEWSOME, W.H. 1971. Determination of methyl mercury in fish and in cereal grain products. *J. Agric. Food Chem.* 19 (3): 567-569.
- NG, J., T.A. GRUBER dan A.A. SEAWRIGHT. 1987. Mercury, selenium and arsenic levels in shark and cats fed on a shark diet. *Proceedings of the 9th Australian Symposium on Analytical Chemistry*. Vol. 1: 467-470.
- NITTA, T. 1972. Marine pollution in Japan. 77-301. *Dalam: Marine Pollution and Seafife*. M. Ruivo (ed), F.A.O. Fishing News Ltd, Surrey, England.
- STANTON, M.P. 1971. Syringe procedure for transfer quantities of mercury vapor for flameless atomic absorption spectrophotometry. *Anal. Chem.* 43 (4): 625-627.