

BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 2, No. 2, 1999

JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil Hakim Kurniawan dan Lukman Gunarto	1
Enzim Selulase dari <i>Trichoderma</i> spp. Selly Salma dan Lukman Gunarto	9
Prospek Bioherbisida sebagai Alternatif Penggunaan Herbisida Kimiawi Indira Genowati dan Untung Suwahyono ...	17
Validasi Metode Analisis Kimia Ahmad Hidayat ...	22
Interaksi Poligenik Ketahanan Tanaman Padi terhadap Patogen Blas Dwinita Wikan Utami ...	29



Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Validasi Metode Analisis Kimia

Ahmad Hidayat

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan

ABSTRACT

Validation Technique for Methods of Chemical Analysis. A. Hidayat. Recently, validation of methods for chemical analysis that has been introduced more than a decade ago has increasingly become important in the globalization era. In order that results of chemical analysis from a certain laboratory recognized and well accepted by other laboratories, the method for chemical analysis need to be validated. An analytical method is valid when it has been validated according to the accepted procedure. This paper explains briefly objectives, importance, and procedures for validation of the method. A case study on validation of methods for plant analysis at Plant and Soil Laboratory of the Research Institute for Food Crop Biotechnology is given as an example. Parameters to be evaluated were precision (repeatability and reproducibility), accuracy, sensitivity, linearity range of the standard solutions, correlation coefficient of the standard solutions, degree of recovery, quality control chart of repetitive analysis, and comparison with results from other laboratories. Generally, results from laboratory analysis of our laboratory showed good performances and in good agreement with those from other laboratories.

Key words: Validation technique, methods for chemical analysis, plant material, laboratory performance.

Pada era globalisasi, di mana bahan pertanian (sayur, buah, biji-bijian) boleh diperdagangkan antarnegara tanpa ada hambatan tarif bea masuk, maka senjata lain yang digunakan untuk menghambat masuknya produk pertanian adalah mutu produk dan gizi serta adanya senyawa yang membahayakan kesehatan manusia. Timbul sejumlah pertanyaan, senyawa apa, sampai batas berapa, metode apa yang digunakan, dan laboratorium mana yang boleh menentukan kadar senyawa tersebut. Semua pertanyaan tersebut berhubungan dengan valid tidaknya suatu hasil analisis dilaporkan kepada pihak lain. Suatu metode dianggap valid bila hasilnya saling diakui pihak yang berkompeten. Validasinya pun perlu mengikuti cara yang dianjurkan oleh banyak pihak.

Umumnya tindakan yang paling aman bagi seseorang yang hendak melakukan analisis kimia adalah menggunakan metode baku yang telah diakui internasional, misalnya metode yang disusun oleh American Standard Testing Materials

(ASTM), Association of Official on Analytical Chemistry (AOAC), atau metode resmi lain yang telah diakui. Namun, karena perbedaan atau keterbatasan alat, bahan kimia atau kondisi lain, metode tersebut mungkin tidak dapat diikuti secara keseluruhan persis seperti yang dianjurkan. Modifikasi, penyederhanaan, atau mungkin perbaikan metode sering dilakukan. Metode yang dimodifikasi tersebut perlu divalidasi dengan cara yang benar. Bila unjuk kerja metode yang telah dimodifikasi tersebut dapat dipertanggungjawabkan *performance* secara keseluruhan (presisi, akurasi, dll.) tidak menyimpang dengan metode formal yang diakui, maka metode yang dimodifikasi tersebut dapat digunakan untuk analisis rutin.

Tujuan dari tulisan ini adalah untuk menghimbau peneliti pertanian khususnya para analis kimia, agar melakukan validasi metode analisis, sehingga data yang dilaporkan dapat dipertanggungjawabkan karena berasal dari metode yang telah divalidasi, sekaligus menyajikan cara melakukan validasi metode. Karena menurut penga-

matan penulis, tidak sedikit peneliti dan teknisi laboratorium yang menggunakan metode resmi dan memodifikasi metode, tanpa melakukan validasi.

PENGERTIAN VALIDASI METODE ANALISIS KIMIA

Validasi metode (VM) adalah proses evaluasi unjuk kerja (*performance*) dan kecocokan (*suitability*) sistem pengukuran untuk memperoleh data analisis menurut cara-cara yang telah digariskan oleh konsensus bersama organisasi internasional (Garfield, 1992; Kateman dan Pijkers, 1981; Kirchmer, 1983; Taylor, 1987).

Kecocokan metode perlu dievaluasi karena suatu metode bisa valid di suatu situasi, tetapi bisa tidak valid untuk situasi yang lain. Oleh karena itu, validasi metode analisis adalah suatu keharusan sebelum metode itu dipakai sebagai metode rutin.

Apa kerugian laboratorium yang tidak melakukan validasi metode? Satu hal yang pasti adalah, mereka tidak percaya kepada data-tanya sendiri, karena tidak tahu batas kepercayaan (*confidence limit*) dari data yang dihasilkan. Data semacam ini sangat merugikan bila digunakan sebagai masukan dalam suatu kebijakan. Validasi metode analisis kimia merupakan unsur yang diaudit bagi laboratorium yang ingin mendapatkan akreditasi atau pengakuan internasional seperti ISO25 (McCully dan Lee, 1980). Laboratorium tidak akan diberi pengakuan atau akreditasi bila menggunakan metode analisis yang tidak valid, atau tidak mampu telusur kepada metode yang telah dibakukan (Cobb, 1986; Taylor, 1987).

VALIDASI DAN UNJUK KERJA METODE ANALISIS KIMIA

Validasi suatu metode tidak lain adalah mengevaluasi unjuk kerja suatu metode analisis (Taylor, 1983; 1987). Unjuk kerja yang umumnya diukur ada sembilan parameter, yaitu (1) ketelitian, (2) ketepatan, (3) batas deteksi, (4) kepekaan, (5) linieritas, (6) penemuan kembali (*recovery*), (7) spesivitas, (8) selektivitas, dan (9) uji kestabilan pada perubahan lingkungan (*rugness test*) (Garfield, 1992; Kateman dan Pijkers, 1981; Kirchner, 1983; Taylor, 1987).

Ketelitian

Ketelitian (*precision*) adalah derajat kesamaan pengukuran yang diulang sebanyak n kali. Pedoman AOAC menganjurkan untuk melakukan ulangan 12 kali dalam menentukan ketelitian. Ada dua jenis ketelitian yang telah dikenal, yaitu keterulangan (*repeatability*) dan kereproduksian (*reproducibility*). Keterulangan dilakukan di dalam keadaan yang serba sama, yakni dilakukan oleh seorang analis, di satu laboratorium dengan menggunakan bahan kimia dan instrumen yang sama. Kereproduksi-an adalah pengulangan yang dilakukan oleh beberapa laboratorium, melalui uji silang (*cross checking*), atau disebut uji kemahiran (*proficiency test*). Menurut tata tertib AOAC metode baru yang diajukan untuk dijadikan metode resmi AOAC terlebih dahulu harus diuji bersama oleh laboratorium anggota kaji ulang (*Peer Review*) AOAC. Setelah diuji, metode baru akan dinilai bisa diterima, diterima dengan perbaikan, atau ditolak (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry, 1995; AOAC, 1993; NATA Technical Note, 1993 Taylor, 1983).

Ukuran ketelitian (keterulangan atau kereproduksi-an) adalah sim-

pangan baku relatif (SBR) dalam satuan persen.

$$\text{SBR (\%)} = S/M \times 100$$

S = simpangan baku

M = rata-rata hasil analisis

Semakin rendah nilai SBR, berarti semakin tinggi ketelitian metode analisis yang diuji.

Ketepatan

Ketepatan adalah derajat kesamaan antara hasil analisis dengan nilai sesungguhnya dari contoh. Inti dari validasi metode adalah menetapkan besarnya derajat kesamaan antara hasil analisis yang dilakukan di suatu laboratorium dengan hasil analisis dari bahan referensi bersertifikat (*certified reference material/CRM*). Sebagai contoh, bila akan melakukan validasi metode analisis parasetamol maka perlu membeli bahan parasetamol bersertifikat (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry, 1995; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983).

Ukuran ketepatan adalah:

$$R = U - (U - X)/U \times 100\%$$

U = kadar contoh bersertifikasi (CRM)

X = hasil analisis

Makin tinggi nilai R , berarti makin tinggi ketepatan metode analisis yang diuji.

Bila CRM tidak tersedia, maka bisa digunakan beberapa pendekatan, yaitu (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry 1995; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983):

1. Analisis contoh sisipan atau umum disebut penambahan standar.
2. Membandingkan data analisis melalui uji kemahiran dengan berbagai laboratorium.

Penambahan standar atau dikenal dengan *spike sample* dilakukan dengan menambahkan senyawa

yang telah diketahui konsentrasinya secara tepat ke dalam contoh yang akan dianalisis (Schoog dan West, 1980).

Walaupun kedua pendekatan tersebut mempunyai kelemahan, namun karena masih langkanya CRM yang dijual di pasar, maka kedua cara tersebut umum digunakan. Bahan referensi bersertifikasi dapat diperoleh di National Institute for Standards and Technology, USA atau di perusahaan bahan kimia atau instrumen yang menjual bahan bersertifikasi. Bahan ini digunakan untuk mengkalibrasi metode baru atau metode baku yang telah dikembangkan.

Batas Deteksi

Batas deteksi (*limit of detection/LOD*) adalah konsentrasi terendah yang mampu ditetapkan dengan suatu metode dan berbeda nyata terhadap pengukuran blanko. Karena batas deteksi dihitung dengan menggunakan simpangan baku dari blanko, kadang-kadang diperoleh angka yang tidak bisa dicapai secara praktek. Oleh karena itu, digunakan ukuran yang bisa dilakukan di laboratorium, yaitu batas kuantifikasi (*limit of quantification/LOQ*) (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry 1995; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983).

Ukuran yang digunakan adalah:

$$\text{LOD} = M_{\text{blc}} + 3 \cdot S_{\text{blc}} \text{ atau } M_{\text{blc}} + 6 \cdot S_{\text{blc}}$$

$\text{LOQ} = \text{spiked}$ yang terkecil dan berbeda nyata dengan blanko

M_{blc} = rata-rata nilai blanko

S_{blc} = simpangan baku blanko

Penggunaan faktor 3 atau 6 sangat relatif tetapi faktor 3 lebih banyak digunakan. Apabila menginginkan keterandalan yang lebih tinggi dianjurkan menggunakan

faktor 6. Makin rendah nilai LOD atau LOQ, berarti metode analisis itu makin baik.

Kepekaan

Kepekaan (*sensitivity*) adalah besarnya sudut kemiringan (*slope*), atau besarnya pembacaan per konsentrasi dari kurva kalibrasi standar. Beberapa ahli mendefinisikan kepekaan sebagai nisbah sinyal terhadap kekacauan (*noise*) instrumen. Definisi terakhir ini sering digunakan untuk menetapkan kepekaan pada sistem instrumen *Flow Analysis*.

$$Y = a + bX$$

Y = sinyal

X = konsentrasi analit

a = intersep

b = sudut kemiringan atau kepekaan.

Kepekaan jarang sekali konstan pada kisaran konsentrasi yang lebar, oleh karena itu kepekaan hanya berguna bila disebutkan kisaran konsentrasinya. Umumnya batas yang paling kecil merupakan batas deteksinya. Makin tinggi nilai sudut kemiringan makin peka metode analisis itu digunakan.

Linieritas

Linieritas (*kisaran linear*) adalah unjuk kerja dari metode analisis yang digunakan sehubungan dengan kemampuan untuk memperoleh hasil analisis langsung berdasarkan kurva kalibrasi standar. AOAC menganjurkan $R = 0,9995$ untuk suatu metode yang baik. Adapun kisaran linier adalah jarak antara konsentrasi terendah dan tertinggi pada tingkat R, ketelitian dan ketepatan tertentu. Parameter ini digunakan juga untuk menetapkan rentang (*magnitude*) atau kisaran konsentrasi di mana metode tersebut layak digunakan. Contoh: bila suatu metode mempunyai kisaran konsentrasi layak 0,1 ppm sampai dengan 10,0 ppm, tidak di-

benarkan mengekstrapolasi di atas atau di bawah konsentrasi tersebut (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry, 1995; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983). Makin tinggi linearitas suatu metode analisis, makin praktis metode itu digunakan.

Penemuan Kembali

Penemuan kembali (*recovery*) adalah tingkat perolehan kembali standar yang ditambahkan ke dalam contoh. Pada umumnya bila tidak ada CRM maka untuk menentukan ketepatan dengan melakukan standar isi. Penambahan standar dilakukan dengan menambahkan senyawa yang telah diketahui konsentrasinya, ke dalam contoh yang akan dianalisis. Jumlah senyawa yang ditambahkan kurang lebih setengah dari kadar senyawa yang telah dianalisis pada contoh sebelum penambahan. Persentase penemuan kembali standar dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry 1995; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983).

$$\text{Penemuan kembali} = \frac{(F-O)/S}{100} \times 100 (\%)$$

F = jumlah senyawa yang diperoleh dari contoh yang telah diberi sisipan (larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya)

O = jumlah senyawa yang tidak diberi sisipan

S = jumlah senyawa yang disisipkan.

Pendekatan penambahan standar mempunyai kelemahan karena bahan atau senyawa yang ditambahkan. Senyawa tiruan yang ditambahkan tidak sama dengan senyawa alami yang ada di dalam contoh aslinya. Pengaruh senyawa tiruan tersebut terhadap matrik di dalam contoh belum tentu sama dengan pengaruh senyawa aslinya.

Dalam hal ini dianjurkan menggunakan berbagai matrik dan kisaran yang bervariasi agar betul-betul yakin bahwa metode itu valid. Minimal tiga tingkat konsentrasi yang digunakan (rendah, sedang, dan tinggi). Statistik menganjurkan agar ulangan pada penambahan standar minimal mempunyai enam derajat bebas atau sama dengan tujuh ulangan pada setiap titik konsentrasi (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry, 1995; Garfield, 1992). Apabila nilai penemuan kembali makin mendekati 100, metode tersebut makin baik.

Spesivitas dan Selektivitas

Spesivitas dan selektivitas sebuah metode adalah kemampuan menetapkan secara akurat dan spesifik dari analit yang diinginkan, bersamaan dengan adanya matrik atau komponen lain dalam matrik contoh. Bila dalam suatu metode diketahui dapat dipengaruhi oleh senyawa lain (*interference effect*), maka harus ditetapkan seberapa besar pengaruh gangguan tersebut mempengaruhi hasil analisis atau seberapa besar konsentrasi senyawa yang akan menimbulkan pengaruh gangguan tersebut dapat diabaikan. Hal ini juga perlu dilakukan pada kisaran konsentrasi yang umum diharapkan ada di alam (Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry, 1995; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983).

Sebagai contoh penetapan aluminium dengan cara kolorimetri, dengan pewarna eryochrome cyanine-R (ECR). Reaksi antara Al dengan ECR membentuk Al-ECR kompleks yang berwarna ungu. Reaksi ini walaupun sangat spesifik, diganggu oleh ion Fe^{2+} . Pada konsentrasi berapa ion Fe^{2+} akan mengganggu penetapan Al perlu ditetapkan. Dilaporkan bahwa me-

tode ECR tidak baik digunakan untuk analisis Al tanah yang mempunyai kadar Fe^{2+} di atas 1000 ppm (Black, 1965).

Selektivitas adalah kemampuan metode menghasilkan beberapa respon yang satu sama lain terpisah, dengan resolusi yang tinggi. Selektivitas ditetapkan pada metode dengan menggunakan alat GC dan HPLC. Besarnya resolusi dan faktor pembentukan ekor (*tailing factor*) digunakan sebagai parameter selektivitas (Huber dan Ludwig, 1993).

Uji Kestabilan pada Perubahan Lingkungan

Uji ini bertujuan untuk menetapkan pengaruh kondisi operasional dan lingkungan terhadap hasil analisis. Contoh kondisi lingkungan antara lain suhu, konsentrasi pereaksi, jenis dan temperatur kolom, analisis, tipe, model dan umur instrumen, kecepatan aliran (*flow rate*) untuk sistem analisis aliran *flow analysis*, dll. Uji kestabilan ditetapkan melalui uji kemahiran atau *proficiency test*. Metode yang baik adalah metode yang tidak dipengaruhi oleh banyak faktor, atau pengaruhnya bisa diabaikan. Uji kestabilan ini tidak mempunyai nilai tertentu. Hasil uji kestabilan harus dicantumkan di dalam setiap metode analisis berupa penjelasan mengenai keterbatasan dan kewaspadaan dalam menggunakan metode tersebut.

VALIDASI METODE ANALISIS KIMIA TANAMAN DI BALITBIO

Contoh tanaman yang digunakan adalah jerami padi. Sebanyak 5 kg jerami yang sudah dikeringkan di oven pada suhu 70°C digiling dengan ayakan 1 mm. Contoh ini digunakan untuk kendali mutu, yaitu dianalisis berulang kali setiap periode tertentu kemudian hasilnya

digunakan untuk membuat diagram kendali mutu.

Metode yang digunakan adalah metode yang disusun oleh AOAC (1993); Sudjadi dan Widjik (1983); dan Yoshida *et al.* (1976), yakni metode yang digunakan uji silang antar 24 laboratorium di Indonesia. Dengan demikian hasil analisisnya dapat dievaluasi. Unjuk kerja, yakni parameter yang telah dijelaskan di atas, ditetapkan menurut cara yang dianjurkan oleh pedoman ahli kaji ulang (*Peer Review*) dari AOAC.

UNJUK KERJA METODE ANALISIS TANAMAN DI BALITBIO

Secara umum dapat dikemukakan bahwa metode analisis tanaman yang dilakukan di Laboratorium Tanah dan Tanaman Balitbio menunjukkan tingkat ketelitian yang cukup baik (Tabel 1). Rataan ketelitian metode adalah 3,05% RSD.

Metode yang mempunyai ketelitian tinggi (<2% RSD) adalah metode analisis K, SiO_2 , Mn, dan Mg. Metode yang mempunyai ketelitian sedang (>2% X >5% RSD) adalah penetapan Ca, kadar air, N, Fe, Na, Zn, dan S, sedangkan yang perlu ditingkatkan ketelitiannya adalah metode analisis Cu. Rendahnya tingkat ketelitian penetapan Cu disebabkan oleh keragaman bawaan dan rendahnya kadar Cu di tanaman.

Ketelitian penetapan Cu dapat ditingkatkan, misalnya dengan memperhalus ukuran contoh yang akan dianalisis (tidak menggunakan contoh berdiameter 1,0 mm melainkan contoh yang berdiameter 0,5 mm) dan memperbesar bobot penimbangan. Usaha lain adalah dengan menggunakan metode analisis aliran, sehingga ketelitian metode analisis tanaman masih bisa ditingkatkan lagi. Menurut Hess

Tabel 1. Ketelitian dan penemuan kembali metode analisis tanaman di Balitbio

No.	Jenis Analisis	Keterulangan (% RSD)	Kereproduksian (% RSD)	Penemuan kembali
1.	K	1,21	3,37	-
2.	Mn	1,34	4,05	90
3.	Mg	1,46	5,03	68
4.	Ca	2,60	9,06	116
5.	N	2,71	-	98
6.	P	2,88	12,16	73
7.	Fe	3,79	6,10	74
8.	Na	4,26	8,35	86
9.	Zn	4,64	18,74	118
10.	S	4,83	41,76	-
11.	Cu	5,23	6,81	114

Keterangan: Penetapan dengan ulangan 10 kali,

Sumber: Hidayat, 1997

Tabel 2. Parameter persamaan linear dari larutan baku masing-masing penetapan

No.	Jenis analisis	Y = aX + b			Selang
		a (intersep)	b (sudut kemiringan)	Koefisien korelasi [R]	
1.	P	0,05	0,006	99,99	2 - 10
2.	K	5,73	0,078	97,82	10 - 200
3.	Na	6,48	2,308	97,97	1 - 20
4.	S	0,05	0,038	99,60	5 - 200
5.	Ca	0,70	2,133	99,67	1 - 40
6.	Mg	2,44	2,179	99,80	1 - 4
7.	Fe	2,68	5,721	99,41	0,2 - 15
8.	Mn	1,82	5,449	99,70	0,1 - 10
9.	Cu	0,03	152,5	99,98	0,02 - 0,40
10.	Zn	4,81	5,193	98,23	0,2 - 10

Sumber: Hess, 1971

(1971) ketelitian analisis tanaman dan tanah berkisar pada tingkat 5% *Relative Standard Deviation* (RSD).

Secara umum ketelitian metode sangat baik, yakni di bawah 5% RSD, kecuali penetapan Cu. Dari analisis yang dilaksanakan di Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan setiap minggu selama empat bulan (kereproduksi) menunjukkan kestabilan yang mantap, kecuali penetapan Zn dan S (Tabel 1). Kedua metode tersebut perlu mendapat perhatian.

Penemuan kembali analisis tanaman sangat bervariasi (Tabel 2). Rataan penemuan kembali dari metode yang diuji adalah 93%. Metode yang mempunyai penemuan kembali $>85\%R<115\%$ adalah penetapan K, Mn, N, Na, dan Cu. Metode yang mempunyai penemuan kembali tinggi disebabkan oleh pengaruh matrik yang menyebabkan senyawa yang terukur menjadi lebih besar dari yang sebenarnya (Hess, 1971). Penyebab lain adalah debu yang menempel pada peralatan, pencucian alat gelas yang kurang sempurna, kondisi instrumen, dan kemurnian bahan kimia yang digunakan (Cobb, 1986; NATA Technical Note, 1993; Taylor, 1983; 1987). Metode yang mempunyai penemuan kembali rendah menggambarkan adanya interaksi antara analit dan matrik, dan komponen pengganggu lainnya yang kompleks, sehingga menyebabkan hilangnya analit yang terukur. Destruksi, penyaringan, dan pembilasan yang kurang sempurna, juga bisa menyebabkan nilai penemuan kembali yang rendah.

Hasil penetapan parameter persamaan kurva baku menunjukkan bahwa koefisien korelasi linear secara keseluruhan berkisar antara 0,9823-0,9999 dengan rata-rata 0,9922 (Tabel 2). Angka ini menunjukkan hubungan yang cukup baik pada kisaran yang ada. AOAC memang

menganjurkan untuk mencapai koefisien korelasi (R) = 0,9995. Namun keadaan yang ideal tersebut sangat sulit dicapai, dalam hal ini hanya metode analisis P yang mencapai ideal. Nilai koefisien korelasi bisa ditingkatkan dengan memperpendek kisaran kerja, yaitu konsentrasi baku yang digunakan. Namun dengan pertimbangan kepraktisan, karena contoh yang diterima di laboratorium sangat bervariasi, maka diperlukan kompromi antara harga R dengan selang kelinieran yang digunakan untuk analisis rutin.

Penetapan Mn, Fe, dan Zn mempunyai sudut kemiringan yang tinggi. Artinya ketiga metode tersebut sangat sensitif. Perubahan konsentrasi yang kecil saja menyebabkan perbedaan pembacaan yang besar. Metode yang mempunyai sudut kemiringan rendah adalah P, K, dan S. Intersep menunjukkan adanya pengaruh matrik pada larutan blanko. Pengaruh matrik yang relatif tinggi terdapat pada penetapan K, Na, dan Zn. Besarnya pengaruh matrik akan mempengaruhi kemampuan metode untuk mengukur konsentrasi yang terkecil (batas deteksi).

Batas deteksi terkecil terdapat pada penetapan Mn, Zn, dan Fe, dan terbesar terdapat pada penetapan Ca, Na, dan K. Terungkap bahwa batas deteksi yang besar disebabkan karena tingginya intersep. Batas deteksi dan kepekaan (sudut kemiringan) pada metode yang menggunakan AAS umumnya dapat ditingkatkan dengan cara mengoptimalkan proses atomisasi, optimasi jenis dan laju gas pembakar, serta komposisi antara oksigen dan gas pembakar. Beberapa parameter lain seperti sudut dan tinggi tanur pembakar, serta pengontrol kepekaan dapat dioptimasi bila diperlukan untuk mendeteksi contoh dengan konsentrasi rendah. Pemasangan parameter (*parameter*

setting) yang digunakan saat penelitian ini berlangsung cukup optimal untuk mengukur contoh tanah dan tanaman dengan konsentrasi yang sangat bervariasi (rendah sampai tinggi). Demi kepraktisan analisis rutin maka pemasangan parameter tersebut jarang diubah-ubah. Batas deteksi jerami padi disajikan pada Tabel 3.

Hasil analisis yang dilakukan di laboratorium Balitbio terhadap contoh daun tebu berada dalam selang pengukuran hasil uji silang antar 18 laboratorium (Tabel 4), bahkan sebagian besar penetapan sangat dekat dengan nilai tengahnya. Dibandingkan dengan ketelitian hasil uji silang yang diikuti oleh 18 laboratorium di Indonesia, ketelitian dan kereproduksi antar laboratorium atau pekerja laboratorium Balitbio cukup baik (Tabel 1 dan 4). Kereproduksi dari hasil uji silang berkisar antara 23-263% RSD, dibandingkan dengan ketelitian dan kereproduksi dari analisis yang dilakukan di Laboratorium Balitbio, di bawah 5 dan 10% RSD. Banyaknya laboratorium anggota uji silang yang mempunyai hasil analisis yang menyimpang (*outlier*) menunjukkan mutu analisis laboratorium peserta uji silang yang memprihatinkan. Angka hasil analisis yang menyimpang tersebut menjadikan persentase RSD hasil uji

Tabel 3. Batas deteksi analisis tanaman dari contoh baku jerami padi

No.	Jenis analisis	Batas deteksi
1.	Mn (ppm)	0,05
2.	Zn (ppm)	0,10
3.	Fe (ppm)	0,20
4.	Cu (ppm)	0,69
5.	Mg (%)	0,003
6.	S (%)	0,004
7.	P (%)	0,004
8.	Ca (%)	0,005
9.	Na (%)	0,007
10.	K (%)	0,013

Keterangan: Tiga kali simpangan baku pengukuran blanko dengan ulangan 10 kali

Sumber: Hidayat, 1997

silang sangat tinggi (126 dan 263). Perbandingan hasil uji silang antara laboratorium Balitbio dengan Puslittanak disajikan pada Tabel 5.

Hasil kendali mutu analisis memberikan hasil yang memuaskan. Dari percobaan duplo setiap minggu selama empat bulan diperoleh peta kendali mutu yang relatif stabil (Gambar 1 dan 2). Hanya satu hasil analisis yang berada di luar batas UCL (*upper central limit*) dan LCL (*lower central limit*), yaitu batas yang digunakan untuk menetapkan bahwa satu paket analisis tidak bisa dilaporkan, karena hasilnya sangat menyimpang. UCL dan LCL adalah selang batas atas dan batas bawah yang besarnya tiga kali simpangan baku dari hasil analisis.

Tabel 4. Perbandingan ketelitian hasil analisis Balitbio dengan ketelitian uji silang periode I, 1997

No.	Jenis analisis	RSD (%)	
		Balitbio	Uji silang
1.	Mn	1,34	126
2.	Mg	1,46	23
3.	K	1,21	23
4.	Ca	2,60	38
5.	Fe	3,79	55
6.	P total	2,88	34
7.	Zn	4,64	238
8.	N	2,15	12
9.	Na	4,26	90
10.	Cu	3,01	263
11.	S	4,83	45

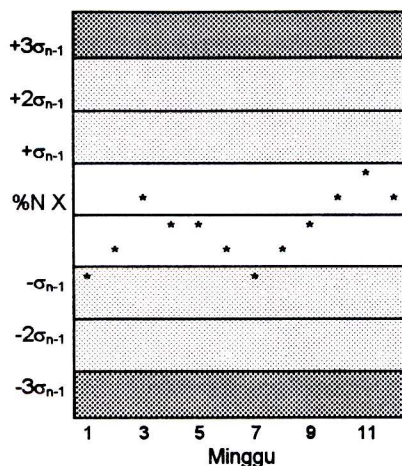
Sumber: Hidayat, 1997

Tabel 5. Perbandingan hasil uji silang antara Laboratorium Tanah dan Tanaman, Balitbio dengan Laboratorium Kesuburan Tanah, Puslittanak

No.	Jenis analisis	Hasil Balitbio	Hasil Puslittanak	Beda (%)
1.	Kadar air (%)	2,760	2,640	4,50
2.	N total (%)	0,710	0,790	89,87
3.	P (%)	0,047	0,030	156,67
4.	K (%)	2,350	0,770	455,84
5.	Ca (%)	0,063	0,080	78,75
6.	Mg (%)	0,079	0,040	50,63
7.	Na (%)	0,024	0,020	270
8.	SiO ₂ (%)	16,580	-	-
9.	S (%)	0,029	0,030	96,67
10.	Fe (ppm)	267	289	47,75
11.	Mn (ppm)	705	352	200
12.	Cu (ppm)	4,600	-	-
13.	Zn (ppm)	22	28	253,57

Keterangan: - = tidak ditetapkan

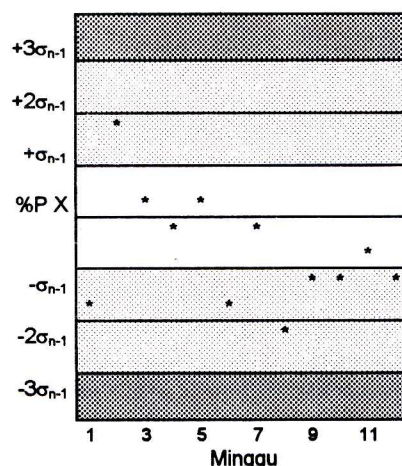
Sumber: Hidayat, 1997



Keterangan: $\bar{X} = 0,731$, $Q_{n-1} = 0,0145$

Gambar 1. Grafik kendali mutu analisis total nitrogen.

Sumber: Hidayat, 1997



Keterangan: $\bar{X} = 5,57$, $Q_{n-1} = 0,274$

Gambar 2. Grafik kendali mutu analisis total fosfat

Sumber: Hidayat, 1997

KESIMPULAN

Hasil validasi metode analisis tanah dan tanaman yang dilakukan di Laboratorium Balitbio menunjukkan tingkat mutu yang baik. Presisi beberapa metode berada di bawah 5% RSD, bahkan beberapa metode mempunyai presisi di bawah 2% RSD. Batas deteksi dan kepekaan sangat rendah. Sebagian besar metode mempunyai kisaran linear yang lebar, dengan koefisien korelasi (R) sekitar 0,9922. Peta kendali mutu selama 4 bulan menunjukkan angka yang cukup stabil dan hasil uji kemahiran dengan 18 laboratorium menyimpulkan bahwa tingkat mutu metode analisis di Balitbio cukup tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Analytical Methods Committee of Royal Society of Chemistry.** 1995. Internal quality control of analytical data. *Analyst* 120:29-34.
- AOAC.** 1993. Manual on Policies and Procedures. Peer-Verified Methods Program. Washington DC, USA
- Black, C.A.** 1965. Methods of soil analysis. Series of Agronomy. American Soc. of Agron. Inc. Publisher, Wisconsin, USA. 9(2).
- Cobb, W.Y.** 1986. Quality assurance in quantitative analytical determinations. AOAC Arlington, VA.
- Garfield, F.M.** 1992. Quality assurance principles for analytical laboratories. AOAC International, USA. Pp. 74-76.
- Hess, P.R.** 1971. A textbook of soil chemical analysis. John Murray Publisher Ltd.
- Hidayat, A.** 1997. Validasi dan unjuk kerja metode analisis tanaman. Seminar Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, tanggal 19 September 1997.
- Huber and Ludwig.** 1993. Good laboratory practice, for HPLC, CE, and UV-Vis spectroscopy. Hewlett Packard

- Kateman, G. and F.W. Pijkers. 1981.** Quality control in analytical chemistry. J. Wiley and Sons, New York.
- Kirchmer, C.J. 1983.** Quality control in water analysis. Environ. Sci. Technol. 17:174-181A
- McCully, K.A., and J.G. Lee. 1980.** Optimizing chemical laboratory performance through the application of quality assurance principles. In Garfield *et al.* (Eds.). AOAC. Arlington, V.A. P. 73.
- NATA Technical Note. 1993.** NATA, Australia, Requirements for the format and content of test methods and recommended procedures for the validation of chemical test methods No. 17.
- Schoog, D.A. and D.M. West. 1980.** Principles of instrumental analysis. 2nd. Ed. Holt-Saunders Internat. Ed.
- Sudjadi, M. dan I.M. Widjik. 1983.** Penuntun analisis tanaman. Buletin Teknik Penelitian Tanah No. 1. Pusat Penelitian Tanah. Bogor.
- Taylor, J.K. 1983.** Validation of analytical methods. Anal. Chem. 55:600-608A.
- Taylor, J.K. 1987.** Quality assurance of chemical measurements. Lewis Publishers. Inc. Pp. 193-195.
- Yoshida, S.D.A. Forno, J.H. Cock, and K.A. Gomez. 1976.** Laboratory manual for physiological studies of rice. 3rd. Ed. IRRI, Manila, Philippines.
-