

PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KADAR TIMBAL (Pb) DALAM DARAH MENGGUNAKAN METODE *ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY*

Lilis Tuslinah, Irwan Hikmawan, , Ade Yeni Aprilia

Program Studi S-1 Farmasi
STIKes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai Pengembangan Metode Analisis Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Menggunakan Metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS). Penelitian dilakukan dengan pendekatan validasi metode, data primer yang diperoleh digunakan untuk menilai metode yang dilakukan pada berbagai konsentrasi *spiked* 1 ppm sampai dengan 6 ppm. Hasil penelitian memiliki persamaan regresi $y = 0,010x + 0,006$ dengan koefisien korelasi (r) 0,997; batas deteksi (BD) 0,44 ppm; dan batas kuantisasi (BK) 1,07 ppm. Hasil uji akurasi pada konsentrasi 2 ppm (80%); 2,5 ppm (100%); dan 3 ppm (120 %) berturut-turut 74,4872%; 86,6129%; dan 89,3519%. Hasil uji presisi pada konsentrasi yang sama berturut-turut 4,2054%; 8,6907%; dan 4,2890%. Proses ekstraksi Pb dalam sampel darah dilakukan dengan cara destruksi kering melalui tahapan pengeringan dan pengabuan selama 8 jam. Abu hasil destruksi dilarutkan dalam asam klorida 6 M, lalu dilakukan penguapan asam klorida hingga kering, garam-garam mineral yang terbentuk dilarutkan dalam asam nitrat 0,1 M. Larutan hasil destruksi digunakan untuk analisis kuantitatif kadar Pb dalam darah. Hasil pengujian menunjukkan kadar Pb sampel A = 0,4733 ppm; B = 0,0946 ppm; dan C = 0,1893 ppm. Sampel darah A memiliki kadar Pb yang berada di atas batas normal menurut *World Health Organization* (WHO), dimana paparan timbal yang diperkenankan untuk pekerja laki-laki 0,4 ppm dan kadar Pb pada sampel darah B dan C masing-masing berada di bawah normal.

Kata Kunci : Pengembangan metode, Validasi metode, Timbal, Darah, AAS.

PENDAHULUAN

Timbal (Pb) adalah logam berat yang secara alami terdapat di dalam kerak bumi atau berasal dari kegiatan manusia, misalnya dari emisi gas sisa pembakaran dalam mesin kendaraan bermotor (Widowati *et al.*, 2008). Selain terdapat dalam bentuk logam murni, timbal juga terdapat dalam bentuk senyawa organik dan anorganik yang berpengaruh sama terhadap toksisitas pada manusia (Darmono, 2008).

Emisi timbal dalam bentuk gas berasal dari hasil samping pembakaran yang terjadi dalam mesin-mesin kendaraan yaitu senyawa tetrametil-Pb dan tetraetil-Pb yang selalu ditambahkan dalam bahan bakar kendaraan bermotor (Palar, 2008).

Bahan bakar kendaraan bermotor jenis premium di Indonesia merupakan bahan bakar yang sangat umum digunakan oleh masyarakat.

Kondisi paparan timbal dalam bentuk gas yang tinggi diantaranya di: (1) tempat parkir di bawah tanah yang memiliki sirkulasi udara tidak baik, (2) stasiun pengisian bahan bakar umum dengan volume kendaraan yang masuk sangat banyak dan menggunakan bahan bakar premium, dan (3) di terminal, dimana terdapat kendaraan angkutan kota dan kendaraan pribadi yang melintasi jalan di sekitar terminal menimbulkan kemacetan, sehingga pola berkendara mempunyai frekuensi melaju dan berhenti yang besar

memberikan kontribusi terhadap akumulasi timbal di udara sekitar terminal. Bersamaan dengan proses inhalasi, timbal dalam udara akan terserap dan berikatan dengan darah di paru-paru kemudian diedarkan ke seluruh jaringan dan organ tubuh. Lebih dari 90 % logam timbal yang terserap oleh darah berikatan dengan sel-sel darah merah (Palar, 2008).

Tempat pengambilan sampel adalah terminal, karena sampel di tempat tersebut memiliki resiko tinggi terpapar timbal akibat banyaknya aktivitas kendaraan. Kualitas udara akan diperburuk oleh paparan timbal dari asap kendaraan bermotor sehingga apabila terinhalasi akan terjadi akumulasi timbal dalam tubuh yang dapat mempengaruhi aktifitas fisik dan kinerja.

Untuk pemeriksaan kadar timbal dalam darah menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS), pada metode yang digunakan sebelumnya dilakukan terlebih dahulu penilaian terhadap berbagai konsentrasi *spiked* 1 ppm sampai dengan 6 ppm.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Na₂EDTA (E. Merck), NH₄Cl, NH₄OH, *Eriochrom Black T* pa (E. Merck), ZnSO₄.7H₂O pa (E. Merck), jingga xilenol pa (E. Merck), heksamina pa (E. Merck), Pb(NO₃)₂pa (E. Merck), HNO₃ pa (E. Merck), HCl pa (E. Merck), alkohol 70%, dan aqua d.m (demineralisasi).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : *Atomic Absorption Spectrophotometer* (Shimadzu AA-6300), *hollow cathode lamp* Pb (L233-82NQ), tanur listrik (FB1310M-26), desikator,krusporselen, *hot plate*, neraca analitik (Mettler Toledo), *disposable syringe* 5 ml, mikropipet, kertas whatman nomor 41, *syringefilter* 0,45µm dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium kimia.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian untuk membuat sampel *spiked* adalah darah yang diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI) Kabupaten Ciamis dengan nomor donor IK978470, kemudian ditambahkan larutan pembanding laboratorium Pb(NO₃)₂ sebagai analit. Sampel penelitian untuk analisis Pb dalam darah, digunakan darah yang diambil dari tiga orang tukang becak di sekitar Terminal Pancasila, Kota Tasikmalaya.

Pembuatan Sampel *Spiked*

Pipet sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,625 ml; 0,75 ml; dan 1 ml dari konsentrasi larutan Pb 100 ppm, dan pipet sebanyak 0,5 ml; dan 0,6 ml dari konsentrasi larutan Pb 250 ppm, pindahkan masing-masing larutan tersebut ke dalam labu ukur 5 ml, kemudian ditepatkan sampai tanda batas dengan darah. Diperoleh konsentrasi larutan Pb 5 ppm; 10 ppm; 12,5 ppm; 15 ppm; 20 ppm; 25 ppm; dan 30 ppm dalam masing-masing sampel *spiked*.

Sampel *spiked* dipindahkan ke dalam krus porselen untuk di destruksi. Pada tahap

pertama, sampel *spiked* dikeringkan di atas *hot plate* sambil ditambahkan sedikit demi sedikit HNO_3 pekat, kemudian suhu dinaikkan mencapai 80°C - 100°C sampai terbentuk arang (A. Bragg S dan Zi-Ling Xue, 2011). Tahap kedua, sampel *spiked* diabukan dalam tanur, suhu tanur diatur menjadi 250°C , lalu perlahan-lahan suhunya dinaikkan menjadi 350°C dengan setiap kenaikan 50°C . Suhu dinaikkan menjadi 500°C dengan setiap kenaikan 75°C setelah itu sampel *spiked* dibiarkan sampai menjadi abu. Tanur dimatikan, dibiarkan menjadi dingin selama 30 menit, Krus porselen dikeluarkan dari dalam tanur dan dibiarkan menjadi dingin dalam desikator (Lubis, H dan Aman C, 2008).

Abu hasil destruksi dilarutkan dalam 5 ml HCl 6 M kemudian dikeringkan di atas *hot plate*. Hasil pengeringan dilarutkan dengan 10 ml HNO_3 0,1 M, kemudian disaring dengan kertas *whatman* nomor 41 ke dalam labu ukur 25 ml, ditepatkan sampai tanda batas dengan HNO_3 0,1 M (AOAC, 2005). Diperoleh konsentrasi larutan Pb 1 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; 3 ppm; 4 ppm; 5 ppm; dan 6 ppm dari masing-masing sampel *spiked*. Larutan hasil penyaringan selanjutnya digunakan untuk analisis kuantitatif logam Pb menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer*.

Linieritas

Uji linieritas dilakukan dari enam konsentrasi sampel *spiked* yaitu 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm; 4 ppm; 5 ppm; dan 6 ppm. Baca absorban pada panjang gelombang 283,3 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi antar konsentrasi (x)

terhadap absorban (y). Selanjutnya diperoleh persamaan linier $y = bx + a$, nilai koefisien korelasi (r), dan koefisien variasi fungsi (V_{x_0}).

Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Secara statistik batas deteksi (BD) dan batas kuantisasi (BK) dapat dihitung melalui persamaan linier dari kurva kalibrasi

Presisi dan Akurasi

Uji akurasi dilakukan dilakukan dari tiga konsentrasi sampel *spiked* yaitu 2 ppm sebagai konsentrasi 80%; 2,5 ppm sebagai konsentrasi 100%; dan 3 ppm sebagai konsentrasi 120%. Akurasi diukur sebagai persen perolehan kembali analit yang ditambahkan pada pengukuran.

Banyaknya data yang direkomendasikan untuk penentuan presisi adalah sembilan kali penentuan dengan tiga tingkat konsentrasi, tiga kali pengulangan (ICH, 2005). Uji presisi dilakukan dengan mengukur absorban sampel pada 2 ppm sebagai konsentrasi 80%; 2,5 ppm sebagai konsentrasi 100%; dan 3 ppm sebagai konsentrasi 120%. Data hasil absorban dihitung simpangan baku (SB) dan persen simpangan baku relatif (SBR).

Kadar Pb pada Sampel Darah

Siapkan krus porselen sebanyak tiga buah, masukkan 5 ml sampel darah ke dalam krus porselen, kemudian didestruksi. Proses destruksi dilakukan dengan cara yang sama dengan destruksi untuk sampel *spiked*. Absorban sampel dibaca dengan alat AAS pada panjang gelombang 283,3 nm kemudian dibuat

kurvakalibrasi antar konsentrasi (x) terhadap absorbansi (y). Untuk mendapatkan kadar analit (Pb) dalam sampel, nilai absorbansi sampel disubstitusikan ke persamaan linier $y = bx + a$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran panjang gelombang maksimum Pb dilakukan dengan alat AAS yang menggunakan *hollow cathode lamp* Pb, diperoleh sebesar 283,3 nm. *Hollow cathode lamp* Pb sebagai sumber radiasi elektromagnetik (REM), memancarkan cahaya yang akan diabsorpsi oleh atom-atom Pb dalam keadaan netral untuk dapat tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi, spesifik untuk setiap atom-atom logam sesuai dengan *hollow cathode lamp* yang digunakan.

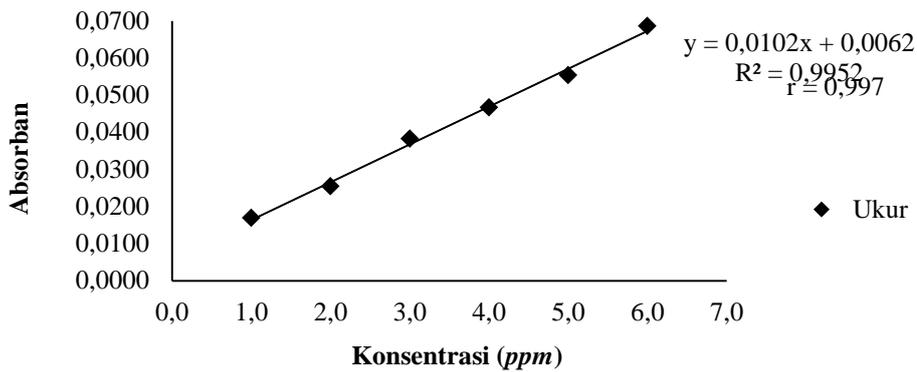
Timbal pembanding yang digunakan dalam penelitian ini yaitu $Pb(NO_3)_2$ dengan tingkat spesifikasi zat tingkat pereaksi (*Pro analysi*), bukan merupakan Timbal pembanding CRM (*Certificate Reference Material*) atau SRM (*Standard Reference Material*). Menurut Harmita (2008) dalam metode simulasi atau Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 0,010x + 0,006$ dengan koefisien metode penambahan baku, pembanding yang ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa yaitu pembanding kimia CRM atau SRM. $Pb(NO_3)_2$ yang digunakan sebagai pembanding harus dibakukan untuk mengetahui tingkat kemurniannya dengan menggunakan metode titrasi

kompleksometri. Diperoleh kadar timbal pembanding laboratorium adalah 94,6730%.

Pemisahan analit (Pb) dari senyawa-senyawa organik dalam sampel *spiked* dan sampel darah A, B, dan C dilakukan dengan cara destruksi kering melalui tahapan pengeringan dan pengabuan. Penambahan sedikit demi sedikit HNO_3 pekat pada tahap pengeringan bertujuan untuk memutuskan ikatan Pb dengan Hb, sehingga Pb dapat membentuk $Pb(NO_3)_2$. Proses ini berlangsung pada suhu $80^\circ C - 100^\circ C$ bertujuan untuk menguapkan H_2O tanpa mengalami *bumping* dan menguapkan HNO_3 berlebih yang ditambahkan. Tahap pengabuan dilakukan dalam tanur yang dikondisikan pada suhu $500^\circ C$ untuk mencegah penguapan analit, karena Pb dapat menguap pada suhu $550^\circ C - 600^\circ C$. Untuk mencapai suhu pengabuan $500^\circ C$, suhu tanur dinaikan perlahan-lahan secara teratur agar krus porselen yang digunakan tidak retak ataupun pecah. Proses pengabuan selesai sempurna setelah sampel *spiked* berwarna merah kecoklatan, khas untuk sampel mengandung besi (III) oksida (Fe_2O_3) dan sudah tidak ada warna hitam yang mengindikasikan unsur karbon. Proses pengabuan berlangsung optimum setelah 8 jam

Data-data primer dari laboratorium diolah secara statistik untuk penentuan parameter linieritas, batas deteksi, batas kuantisasi, akurasi, dan presisi.

Linieritas suatu metode ditentukan untuk membuktikan adanya hubungan linier



antara konsentrasi analit dengan respon instrumen, merupakan salah satu pengujian yang harus dilakukan pada saat pengembangan metode dan validasi metode analisis (Ibrahim S, 2005). Kurva linieritas (kurva kalibrasi) diperoleh dari hubungan konsentrasi Pb terhadap absorbansi, dibuat dari hasil pengukuran enam konsentrasi sampel *spiked* Pb yaitu 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm; 4 ppm; 5 ppm; dan 6 ppm, ditunjukkan pada Tabel 1.

korelasi (r) sebesar 0,997. Koefisien variasi fungsi (V_{x_0}) yang diperoleh yaitu sebesar 4,17%. Menurut Ibrahim (2005) nilai V_{x_0} untuk analisis dalam matriks biologi $\leq 5,0\%$.

Dari data kurva kalibrasi tersebut ditentukan batas deteksi (BD) dan batas kuantisasi (BK) menggunakan metode *Deutsches Institut for Normung* (DIN) 38402. BD dan BK yang diperoleh berturut-turut 0,44 ppm dan 1,07 ppm.

Tabel 1.Data Kurva Kalibrasi Pb²⁺.

Konsentrasi Pb ²⁺ (ppm)	Absorban
1	0,0169
2	0,0254
3	0,0382
4	0,0466
5	0,0553
6	0,0686

Tabel 2.Hasil Uji Akurasi dan Presisi Penetapan Kadar Pb²⁺.

Konsentrasi <i>Spiked</i> Pb ²⁺ (ppm)	Absorban	Kadar Perolehan Kembali	Persen Kadar Perolehan Kembali (%)	SB	SBR (%)
1	0,0169	1,0933	68,3333	10,3141	15,0938
2	0,0254	1,9367	74,4872	3,1325	4,2054
2,5	0,0329	2,6850	86,6129	7,5273	8,6907
3	0,0382	3,2167	89,3519	3,8323	4,2890
4	0,0466	4,0633	88,3333	8,9430	10,1242
5	0,0553	4,9333	88,0952	0,4494	0,5101
6	0,0686	6,2567	94,7980	1,2247	1,2919

Gambar 1.Kurva Kalibrasi Pb²⁺.

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya, ditunjukkan dengan persen perolehan kembali (%*recovery*). Konsentrasi yang digunakan adalah 2 ppm sebagai konsentrasi 80%; 2,5 ppm sebagai konsentrasi 100%; dan 3 ppm sebagai konsentrasi 120%.

Perolehan %*recovery* berdasarkan data Tabel 2. pada konsentrasi 2 ppm; 2,5 ppm; dan 3 ppm berturut-turut adalah 74,4872%; 86,6129%; dan 89,3519%. Menurut Lindholm dalam Ningrum *et al.* (2009) dalam pengukuran %*recovery* untuk bioanalisis, nilai rata-rata persen perolehan kembali yang diperbolehkan adalah 85% –115%.

Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (SBR) dan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) dan ketertiruan (*reproducibility*). Dalam penelitian ini menetapkan keterulangan metode sebagai parameter presisinya. Keterulangan merupakan keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan interval waktu pendek.

Presisi diperlukan untuk menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang

homogen. Perolehan nilai SBR pada konsentrasi 2 ppm; 2,5 ppm; dan 3 ppm berturut-turut 4,2054%; 8,6907%; dan 4,2890%. Untuk bioanalisis, syarat nilai SBR yang diijinkan maksimal 15% (EMEA, 2009; Ningrum *et al.* 2009).

Dari Tabel 2. juga dapat dilihat keseluruhan %*recovery* dan SBR dari konsentrasi *spiked* Pb 1 ppm sampai dengan 6 ppm. Berdasarkan hasil uji menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi *spiked* Pb memberikan nilai %*recovery* yang relatif semakin besar pula.

Pada konsentrasi Pb 1 ppm memberikan %*recovery* sebesar 68,3333% berada di bawah rentang %*recovery* 85%-115% yang diperbolehkan untuk sampel biologis, kemudian keterulangan dari metode analisis ditunjukkan dengan nilai SBR 15,0938 %.

Hal demikian terjadi karena konsentrasi analit sangat kecil, sesuai dengan pernyataan Harmita (2008) bahwa dari penelitian ditemukan simpangan baku relatif (SBR) meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis. Pada konsentrasi satu per sejuta (1 ppm) SBRnya dapat mencapai 16 %.

Hasil pengujian yang berbeda ditunjukkan dari konsentrasi Pb 2,5 ppm sampai dengan 6 ppm dapat memenuhi %*recovery* dan SBR yang dipersyaratkan.

Tabel 3.Data Absorban dan Hasil PenetapanKadar

Sampel	Absorban	Rata-rata	Kadar Pb ²⁺ (ppm)
A	0,0071	0,007	0,4733
	0,0069		
	0,0070		
B	0,0060	0,0062	0,0946
	0,0064		
	0,0061		
C	0,0066	0,0064	0,1893
	0,0061		
	0,0066		

Data absorban dan hasil penetapan kadar Pb dalam sampel darah menggunakan alat AAS ditunjukkan pada Tabel 3. Berdasarkan data absorban terhadap persamaany = 0,010x + 0,006; dengan faktor pengenceran 5 kali dan kemurnian Pb pembanding 94,6730% makadiperoleh kadar Pbdalam sampel darah A = 0,4733 ppm; sampel B = 0,0946ppm; dan sampel C = 0,1893 ppm.

Menurut *World Health Organization* (WHO) paparan timbal yang diperkenankan untuk pekerja laki-laki 0,4 ppm, maka sampel darah A memiliki kadar Pb yang berada di atas normal. Kadar Pb berbeda ditunjukkan oleh sampel darah B dan C, dimana kadar Pb masing-masing berada di bawah normal.

Hasil penelitian terhadap kadar Pb pada sampel darah A, B dan C tidak dapat dijadikan untuk menyimpulkan kondisi tempat sampel, karena jumlah sampel hanya sedikit dan banyak faktor yang mempengaruhi kadar Pb dalam darah diantaranya masa kerja, jam kerja, kebiasaan merokok, penggunaan alat pengaman diri (masker, sarung tangan),

dan kadar Pb di udara sekitar tempat sampel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Validasi metode analisis yang dilakukan menunjukkan bahwa analisis kadar timbal (Pb) dalam darah dengan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* memberikan persamaan garis regresi liniery = 0,010x + 0,006 dengan nilai r = 0,997; $V_{x0} = 4,17\%$; batas deteksi (BD) 0,44 ppm; batas kuantisasi (BK) 1,07 ppm; akurasi pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% berturut-turut 74,4872%; 86,6129%; dan 89,3519%, presisi dinyatakan sebagai persen simpangan baku relatif pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% berturut-turut 4,2054%; 8,6907%; dan 4,2890%.

Pada uji akurasi dan presisi sampel *spiked* 1 ppm sampai 6 ppm menunjukkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi *spiked* yang ditambahkan pada matrik, maka relatif semakin besar pula % *recovery* dan nilai SBR meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi analit.

Hasil penetapan kadar Pb dari sampel darah A = 0,4733 ppm; B = 0,0946 ppm; dan C = 0,1893 ppm. Sampel darah A memiliki kadar Pb yang berada di atas batas normal menurut *World Health Organization* (WHO), dimana paparan timbal yang diperkenankan untuk pekerja laki-laki 0,4 ppm, sedangkan kadar Pb pada sampel darah B dan C masing-masing berada di bawah normal.

Saran

Pada penelitian lebih lanjut disarankan untuk melakukan suatu uji saring terlebih dahulu terhadap relawan yang cairan biologisnya (darah, urine) digunakan sebagai matrik biologis pada metode standar adisi.

Pada proses destruksi kering dalam metode ini disarankan penambahan asam nitrat yang berlebih untuk mengkonversi semua Pb dalam sampel menjadi $Pb(NO_3)_2$.

Untuk pengujian akurasi dan presisi pada metode ini agar diperoleh nilai memenuhi kriteria cermat dan seksama maka konsentrasi *spiked* yang dibuat harus mulai di atas 2 ppm.

Metode yang digunakan pada penetapan kadar Pb dalam darah ini dapat pula digunakan pada sampel berupa daging, karena Pb yang ada dalam matrik tersebut telah terfiksasi.

DAFTAR PUSTAKA

Anita D.J. Ningrum, Siluh M.Y. Astini, dan Arief R. Hakim. 2009. Validasi Metode Penetapan Kadar Pentagamavunon-1 dalam Darah

Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 4, No. 3, 135-145.

AOAC. 2006. AOAC Official Method 999.11 Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Food : *AOAC International*.

Bragg A Stefanie, Xue Zi-Ling. 2011. Optimization of Dry Ashing of Blood Samples for Trace Metal Analysis. *American Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 2, 979-983.

Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Jakarta: Universitas Indonesia. hal 140.

European Medicines Agency. 2009. *Guideline on Validation of Bioanalytical Methods*. London : EMEA.

Harmita, 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 1, No. 3, 117-135.

Ibrahim, Slamet. 2005. Berbagai Pendekatan Pengujian Kelinieran Kurva Baku pada Metode Instrumental. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. 30, No. 1, 30-34.

International Conference on Harmonisation. 2005. *Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology*.

Lubis, Hayati dan Aman Chalikuddin. 2008. Pemeriksaan Logam Merkuri, Timbal, dan Cadmium dalam Daging Rajungan Segar yang Berasal Dari TPI Gabion Belawan Secara

- Spektrofotometri Serapan Atom. *Majalah Kedokteran Nusantara*. Vol. 41, No. 1.
- Palar, H. 2008. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta. hal 78; 83; 92.
- Widowati W, Sastiono A, Rumampuk RJ. *Efek Toksik Logam*. 2008. Yogyakarta: Andi. hal 109; 121.