

DOI: <https://doi.org/10.21009/JRSKT.101.03>

Validasi Metode Analisis Fosfor pada Sampel Daging dengan Pereduksi Hidrazin Sulfat menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis

Adelia Nisrina Khanza*, Yussi Pratiwi

Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jl. Rawamangun Muka, Rawamangun, Jakarta Timur, DKI Jakarta 13220, Indonesia

*Email: adelianisrina3@gmail.com

Received: 29 April 2024
Revised: 15 May 2024
Accepted: 30 May 2024
Online: 15 June 2024
Published: 30 June 2024

Jurnal Riset Sains dan Kimia Terapan
p-ISSN: 2302 - 8467
e-ISSN: 2303 – 0720



Abstrak

Pakan ternak yang biasanya dikonsumsi untuk menjaga nutrisi ternak mengandung fosfor. Fosfor dalam pakan ternak dapat menyebabkan akumulasi fosfor dalam daging ternak. Oleh karena itu, analisis fosfor secara berkala diperlukan untuk memastikan makanan tersebut aman untuk dikonsumsi. Analisis fosfor diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan menentukan kondisi optimum untuk analisis fosfor kemudian dilanjutkan validasi metode analisis yang terdiri dari parameter linearitas, sensitivitas, batas deteksi dan kuantitasi, akurasi dan presisi. Reaksi molibdenum biru menghasilkan senyawa kompleks fosfomolibdat dengan panjang gelombang 689 nm. Validasi metode analisis fosfat tereduksi hidrazin sulfat memiliki linearitas dengan nilai $R^2 = 0,9984$ pada rentang $0 - 0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Absorptivitas molar sebesar $7,9259 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Nilai limit deteksi (LOD) sebesar $5,26 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$ dan nilai limit kuantitasi (LOQ) sebesar $1,59 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$. Nilai presisi dinyatakan dalam persen simpangan baku relatif %RSD pada daging bebek, ayam dan sapi sebesar 1,33%, 1,34% dan 1,08%. Persen perolehan kembali yang diperoleh untuk setiap sampel daging berkisar antara 90% - 117%. Fosfat yang terkandung dalam daging bebek, ayam dan sapi tidak melebihi baku mutu menurut Persatuan Ahli Gizi Indonesia (PERSAGI).

Kata kunci: hidrazin sulfat, metode analisis fosfor, spektrofotometri UV-Vis

Abstract

Animal feed which is usually consumed to maintain the nutrition of livestock contains phosphor. The phosphor in animal feed may cause an accumulated phosphor in meat. Therefore, a regular phosphor analysis is needed to make sure the food is safe. Phosphor analysis is measured by using spectrophotometry UV-Vis method by determining the optimum conditions for phosphorus analysis and then continued analysis validation which consists of linearity parameter, sensitivity, limit of detection and

quantitation, accuracy, and precision. The reaction of blue molybdenum results in complex phosphomolybdate compound with a wavelength of 689 nm. The method validation of analysis of phosphate reduced hydrazine sulfate have a linearity of the method with $R^2=0.9984$ in the range of 0 - 0.05 mg L⁻¹. The molar absorptivity of 7.9259×10^4 L mol⁻¹ cm⁻¹. The value of limit of detection (LOD) of 5.26×10^{-4} mg L⁻¹ and quantitation limit (LOQ) value of 1.59×10^{-3} mg L⁻¹. The precision values were expressed as percent of the relative standard deviations of %RSD in duck, chicken and cow of 1.33%, 1.34% and 1.08%. The percent recovery is obtained for each sample of meat ranged from 90% - 117%. Phosphate contained in duck, chicken and cow did not exceed the quality standard according to the Indonesian Nutritionist Association (PERSAGI).

Keywords: *analysis fosfor method, hidrazin sulfat, spektrofotometri UV-Vis*

Pendahuluan

Daging hewan merupakan salah satu pangan yang memiliki nilai gizi untuk memenuhi kebutuhan protein bagi manusia (Marbà et al., 2023). Daging adalah bagian lunak dari hewan yang tertutup oleh kulit dan melekat pada tulang yang menjadi bahan makanan (Chiles & Fitzgerald, 2018). Daging merupakan hasil ternak yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, karena kandungan gizi yang dimiliki daging cukup lengkap dan mengandung manfaat bagi kesehatan tubuh manusia. Beberapa manfaat daging antara lain kalori, protein, zat besi, vitamin B kompleks, mineral makro seperti kalsium (Ca), fosfor (P), dan kalium (K) (Smith et al., 2022). Fosfor adalah nutrisi penting yang ditemukan dalam daging, penting bagi kesehatan manusia, terutama untuk kekuatan tulang dan gigi (Peacock, 2020), tetapi konsumsi berlebihan dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti hiperfosfatemia, yang terkait dengan penyakit kardiovaskular dan penyebab kematian (Donat-Vargas et al., 2023). Jumlah fosfor dalam daging hewan tergantung pada bahan pakan (Krieg et al., 2023). Untuk mengoptimalkan reproduksi hewan, diperlukan jumlah mineral yang cukup dalam bahan pakannya. Hal ini terkait dengan ketersediaan mineral tersebut di dalam darah. Jika kebutuhan mineral tidak tercukupi dari hari ke hari, maka akan mempengaruhi fungsi fisiologis hewan (Duvall et al., 2023).

Fosfor adalah unsur penting untuk perkembangan dan pertumbuhan hewan (Tang et al., 2021). Analisis fosfor dalam sampel sangat kompleks karena fosfor dapat ditemukan dalam berbagai bentuk anorganik dan organik. Fosfor pada ternak berada dalam bentuk fosfolipid sebagai komponen struktural dinding sel dan juga sebagai fosfat organik yang berperan dalam menyimpan atau melepaskan energi dalam bentuk adenin trifosfat (Peacock, 2020). Fosfor memiliki peran biokimia dan fisiologis yang sangat penting bagi tubuh dan juga merupakan salah satu mineral yang paling banyak terdapat di dalam tubuh setelah kalsium (Mironov et al., 2022). Fosfor dalam tulang mengandung sekitar 80-85% dan 15-20% dalam jaringan lunak dan cairan (Hernando et al., 2021). Jika kadar fosfor yang dikonsumsi dalam tubuh berlebihan, maka dapat menyebabkan gangguan kesehatan, kondisi dimana kadar fosfor yang berlebihan disebut hiperfosfatemia (Rohit et al., 2023). Penyakit ini disebabkan oleh kondisi atau penyakit tertentu seperti gagal ginjal kronis, dan berisiko menyebabkan pengeroposan tulang karena interaksi yang berlebihan antara kalsium dan fosfor (Hou et al., 2022). Untuk menganalisis kandungan fosfat, diperlukan sebuah metode yang sederhana namun dapat membantu dalam hal menganalisis kandungan fosfat.

Salah satu metode analisis yang dapat digunakan adalah metode Analisis Anion. Metode Analisis Anion adalah metode yang digunakan untuk menganalisis kandungan fosfat dalam sebuah sampel (Altundag et al., 2019). Analisis anion untuk penentuan fosfat dapat dilakukan dengan menggunakan instrumen seperti kromatografi, elektroforesis, X-Ray Fluorescence (XRF), ICP-OES, ICP-MS, dan

NMR (Wieczorek et al., 2022). Dalam penelitian Dell'Aquila, Neal, & Shewry (2020) menggunakan pengembangan metode SEC-ICP-MS untuk penentuan besi (Fe), seng (Zn) dan fosfor (P) pada kubis, brokoli, bayam dan kangkung dengan menggunakan amonium nitrat sebagai fasa gerak. Hasil penelitian menunjukkan presisi dan reproduktibilitas intra hari dan inter hari untuk fosfor (P) %CV yaitu 0-2,6% (waktu retensi), 0-3,4% (konsentrasi), 0-9,5% (ukuran molekuler) (Dell'Aquila et al., 2020).

Sementara itu, Analisis kuantitatif yang digunakan untuk identifikasi fosfor adalah spektrofotometri yang melibatkan amonium molibdat. Metode ini memiliki beberapa kelebihan seperti sederhana, mudah, dan murah sehingga metode ini sangat cocok untuk analisis fosfat dalam sampel (Pokhrel et al., 2022). Penentuan fosfat pada metode ini didasarkan pada reaksi antara ortofosfat dengan amonium molibdat dalam suasana asam, dilanjutkan dengan reduksi dengan berbagai agen pereduksi, misalnya hidrazin sulfat (Pokhrel et al., 2022). Hasil reaksi membentuk senyawa kompleks molibdenum berwarna biru, dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 700-800 nm. Intensitas warna kompleks biru ini sebanding dengan kandungan fosfat dalam sampel. Berdasarkan hasil penjelasan terkait bahaya fosfor yang berlebihan serta maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum analisis fosfat menggunakan pereduksi hidrazin sulfat, mengetahui kondisi optimum analisis fosfat menggunakan pereduksi hidrazin sulfat, dan menghitung kadar fosfat pada sampel daging yang dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis.

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen yang digunakan meliputi optimasi kondisi analisis fosfor, penentuan kadar fosfor pada sampel daging yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 700 - 800 nm dan menggunakan metode analisis fosfor pada sampel daging dengan mengukur linearitas, akurasi, sensitivitas, presisi, LOD, dan LOQ. Terdapat beberapa tahapan prosedur kerja yang dilakukan dalam penelitian ini, antara lain: pembuatan pereaksi, optimasi kondisi analisis fosfor, optimasi kondisi reduksi fosfor dengan hidrazin sulfat, validasi metode analisis fosfor, preparasi sampel, analisis fosfor pada sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pada pembuatan larutan fosfat standar dengan variasi konsentrasi 0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan

0,05 ppm. Sampel yang digunakan adalah daging sapi, daging ayam, dan daging bebek. Sampel daging yang digunakan dibeli dari pasar Kranji. Sebelum dianalisis, sampel daging dihaluskan kemudian 5 gram daging didemineralisasi menggunakan 7 mL HNO_3 (65%) dan dibiarkan selama 24 jam di dalam labu Kjeldahl. Setelah itu, ditambahkan ke dalam campuran, dipanaskan pada suhu 100°C selama 60 menit, dan ditambahkan 2 mL H_2O_2 (30%) yang dipanaskan pada suhu 100°C selama 120 menit, menghasilkan larutan berwarna kuning jernih yang kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas.

Analisis fosfor pada sampel daging Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan cara mengambil 1 mL sampel yang telah didemineralisasi, kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan 2,0 mL reagen amonium molibdat, 2 mL asam sulfat, dan ditambahkan 1 mL hidrazin sulfat kemudian diencerkan hingga tanda batas. Larutan yang diperoleh dihitung absorbansinya terhadap blanko pereaksi pada 689 nm.

Data absorbansi yang diperoleh kemudian dianalisis dan dibuat persamaan regresi linier antara konsentrasi dan absorbansi dan data dihitung dengan rumus

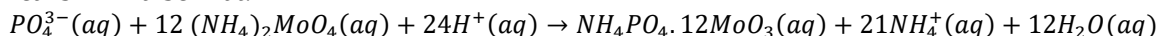
$$y = mx + a \quad (1)$$

y sebagai absorbansi, m sebagai koefisien regresi (kemiringan), x sebagai konsentrasi (mg L^{-1}), dan a sebagai konstanta regresi (intersep).

Hasil dan Pembahasan

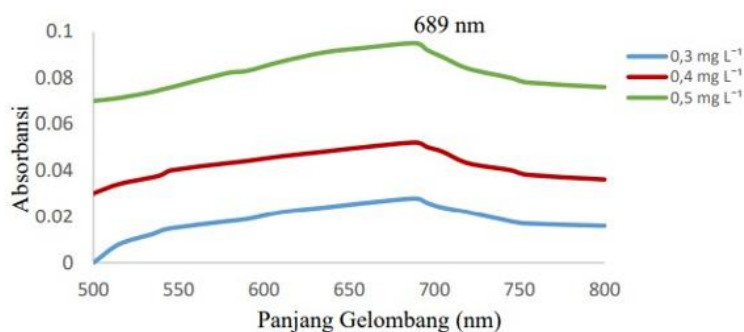
Optimalisasi Kondisi Analisis Fosfat

Analisis fosfat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada reaksi antara fosfat dan amonium molibdat dalam suasana asam, yang direduksi oleh zat pereduksi untuk membentuk senyawa fosfomolibdat berwarna biru. (8) Reaksi antara fosfat dan amonium molibdat disajikan dalam reaksi kimia berikut.



Pada penelitian ini ortofosfat membentuk kompleks kuning dengan ion molibdat tetapi kompleks kuning tersebut tidak terlalu stabil dan warnanya dapat dipengaruhi oleh ion besi dan zat organik lainnya (Phouthavong et al., 2021). Fosfat dengan amonium molibdat dalam lingkungan asam akan bereaksi membentuk $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ yang merupakan bentuk fosfomolibdat dengan struktur Keggin. Kemudian ion heteropoli molibdat ini direduksi dengan tiourea menghasilkan senyawa kompleks $[PMo_{12}O_{40}]^{6-}$ yang merupakan bentuk tereduksi dari fosfomolibdat dengan struktur Keggin.

Panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum merupakan persyaratan untuk analisis kuantitatif spektrofotometri, karena serapan senyawa yang diukur pada panjang gelombang serapan maksimum akan memberikan kepekaan dan ketelitian yang baik (Ma et al., 2021). Pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 500-800 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini dilakukan pada tiga konsentrasi fosfat yang berbeda. Hal ini bertujuan untuk melihat apakah perbedaan konsentrasi tersebut mengubah panjang gelombang pada serapan maksimum. Konsentrasi fosfat yang digunakan adalah 0,3; 0,4 dan 0,5 mg L⁻¹. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum fosfat pada kondisi asam yang direduksi oleh hidrazin sulfat disajikan pada Gambar 1.



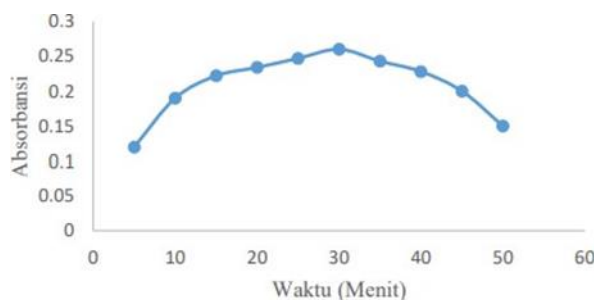
Gambar 1. Spektrum panjang gelombang maksimum senyawa fosfomolibdat.

Berdasarkan Gambar 1 penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh untuk fosfor adalah 689 nm. Karena adanya pengaruh warna komplementer, maka cahaya warna yang menyerap panjang gelombang tertentu akan berbeda dengan warna yang dapat dilihat secara langsung. Untuk larutan kompleks fosfat yang memiliki warna komplementer biru-hijau memiliki rentang panjang gelombang antara 610-750 nm. Jika dibandingkan dengan penelitian Jastrzębska (2009) yang memperoleh panjang gelombang maksimum pada pengukuran fosfat menggunakan spektrofotometri UV-Vis sebesar 730 nm. Perbedaan panjang gelombang yang diperoleh pada penelitian Jastrzębska (2009) dapat disebabkan karena adanya pergeseran panjang gelombang maksimum ke arah yang lebih pendek. Pergeseran ini merupakan pergeseran biru atau pergeseran hipsokromik, yaitu pergeseran atau perubahan panjang gelombang maksimum ke arah yang lebih kecil. Hal ini disebabkan oleh penghilangan auktokrom atau perubahan pelarut dari polar ke non polar atau sebaliknya. Polaritas pelarut mempengaruhi panjang gelombang maksimum karena polaritas molekul biasanya berubah ketika elektron bergerak dari satu orbital ke orbital lainnya. Secara umum, pergeseran hipsokromik memiliki transisi $n \rightarrow \pi^*$. Hal ini disebabkan oleh solvasi yang lebih kuat karena adanya pasangan

elektron tunggal dan hal ini menyebabkan penurunan energi n . Sehingga transisi tersebut membutuhkan energi yang lebih besar, maka pergeseran yang terjadi lebih kecil.

Senyawa kompleks dapat menyerap energi di wilayah cahaya tampak. Penyerapan energi tersebut digunakan untuk mendorong atau mentransisikan elektron dari orbital berenergi rendah menuju orbital berenergi tinggi. Kompleks dengan karakter $d1 - d9$ adalah kompleks yang memiliki warna karena adanya transisi elektron pada orbital d . Menurut teori medan kristal, orbital d dari atom pusat dapat mengalami pemecahan energi orbital. Pemecahan orbital d bergantung pada orientasi ligan yang tepat dengan orientasi kelima orbital d . Kompleks fosfomolibdat memiliki struktur keggin dengan struktur tetrahedral. Pemisahan tingkat energi dalam geometri tetrahedral terjadi pada orbital d_{xy} , d_{xz} dan d_{yz} , tetapi orbital $d_{x^2-y^2}$ dan $d_{x^2+z^2}$ tidak mengalami pemisahan tingkat energi. Panjang gelombang maksimum senyawa kompleks fosfomolibdat yang dihasilkan pada penelitian ini digunakan untuk menentukan kondisi optimasi untuk analisis fosfat lebih lanjut.

Optimasi waktu kestabilan kompleks fosfomolibdat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui lamanya waktu yang dibutuhkan fosfat bereaksi dengan amonium molibdat dalam lingkungan asam lalu direduksi oleh hidrazin sulfat membentuk kompleks fosfomolibdat yang stabil berwarna biru. Warna biru kompleks fosfomolibdat mulai terbentuk ketika zat pereduksi hidrazin sulfat ditambahkan. Variasi waktu pengendapan untuk kompleks fosfomolibdat adalah 5-50 menit.



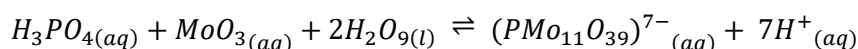
Gambar 2. Grafik hubungan antara waktu reaksi pembentukan senyawa kompleks fosfomolibdat dan absorbansi fosfat.

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui hubungan antara waktu kestabilan pembentukan senyawa kompleks dengan absorbansi kompleks fosfomolibdat menunjukkan bahwa absorbansi pada waktu 5-25 menit mengalami peningkatan absorbansi yang disebabkan oleh semakin banyaknya tumbukan efektif antara amonium molibdat dan hidrazin sulfat sehingga semakin banyak produk reaksi yang terbentuk. Kemudian setelah 30 menit absorbansi mengalami penurunan. Absorbansi yang relatif konstan pada menit ke-30 menunjukkan bahwa reaksi antara amonium molibdat dengan hidrazin sulfat sudah maksimal. Hasil optimasi waktu kestabilan senyawa kompleks fosfomolibdat dari penelitian ini diperkuat oleh Ganesh et al. (2012) bahwa kestabilan senyawa kompleks fosfomolibdat terjadi pada waktu pendiaman 30-35 menit. Kompleks hetero fosfomolibdat memiliki struktur keggin dan setiap atom O dari fosfat yang berstruktur tetrahedral diikat oleh 3 atom Mo yang berstruktur oktahedral. (MoO_6) membentuk kluster yang terdiri dari 12 struktur oktahedral dengan atom Mo pusat dan 1 atom fosfat. Struktur α - Keggin mengalami rotasi sebesar 60° yang menyebabkan senyawa ini menjadi tidak stabil karena fosfat dengan struktur tetrahedral normal memiliki simetri T_d (simetri yang terjadi pada tetrahedral normal) berubah menjadi tetrahedral yang memiliki simetri C_{3v} (simetri yang terjadi pada tetrahedral akibat rotasi 120° dan refleksi pada bidang vertikal tetrahedral normal). Perubahan rotasi sebesar 60° pada 3 atom Mo menyebabkan perubahan sudut fosfat dengan struktur tetrahedral normal ($109,47^\circ$) menjadi tetrahedral terdistorsi, sehingga tolakan pada gugus tersebut semakin besar dan strukturnya menjadi tidak stabil, sehingga memungkinkan terjadinya penguraian senyawa heterofosfomolibdat.

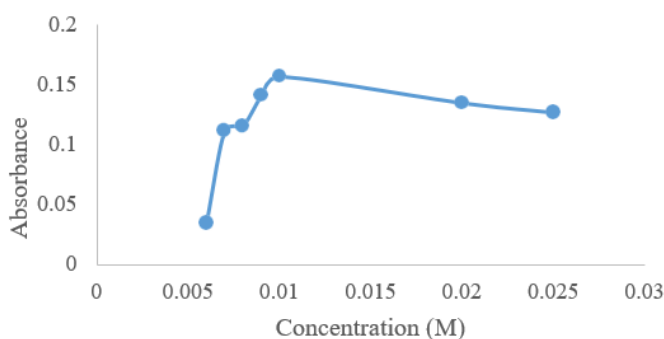
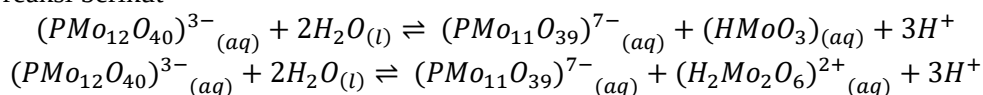
Penambahan konsentrasi amonium molibdat mempengaruhi proses reaksi optimasi fosfat menjadi kompleks fosfomolibdat, karena konsentrasi amonium molibdat sebagai agen pengikat fosfor. Konsentrasi amonium molibdat yang ditambahkan akan berbanding lurus dengan pembentukan fosfat sebagai produk yang akan dihasilkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi konsentrasi larutan amonium molibdat agar jumlah fosfat yang dihasilkan maksimal. Optimasi konsentrasi larutan

amonium molibdat dilakukan dengan berbagai konsentrasi (0,006 ; 0,007 ; 0,008 ; 0,009 ; 0,010 ; 0,020 dan 0,025) M. Hasil proses optimasi konsentrasi larutan amonium molibdat ditunjukkan pada Gambar 3.

Berdasarkan hasil optimasi konsentrasi larutan amonium molibdat, pada konsentrasi kurang dari 0,010 M, jumlah kompleks $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ yang terbentuk semakin berkurang. Hal ini ditunjukkan dengan adanya serapan kompleks $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ yang lebih rendah. Hal ini terjadi karena adanya kelebihan asam fosfat dan kekurangan molibdat sehingga hanya sebagian kompleks $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ yang terbentuk sedangkan sebagian lagi hanya terbentuk senyawa intermediet $[PMo_{11}O_{39}]^{7-}$ dengan reaksi [4].

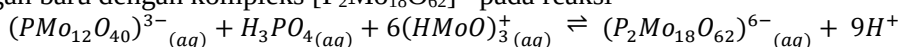


Selain itu, kompleks $[PMo_{11}O_{39}]^{7-}$ juga dapat dibentuk dari hidrolisis kompleks $(PMo_{12}O_{40})^{3-}$ menurut reaksi berikut

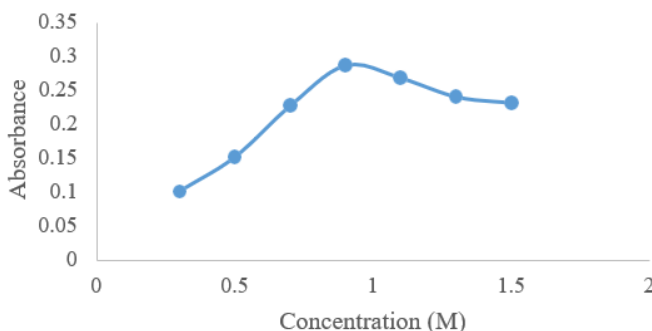


Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi amonium molibdat dan absorbansi senyawa kompleks fosfomolibdat

Jika konsentrasi molibdat berlebihan, jumlah kompleks $(PMo_{12}O_{40})^{3-}$ juga menurun, penyerapannya terlihat pada Gambar 3. Pada kondisi yang sangat asam dan molibdat terlalu berlebihan, kompleks $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ yang terbentuk bereaksi dengan asam fosfat dan molibdat, membentuk reaksi kesetimbangan baru dengan kompleks $[P_2Mo_{18}O_{62}]^{6-}$ pada reaksi



Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi pengompleks yang paling optimum adalah 0,010 M, hal ini menunjukkan bahwa ion heptamolibdat dengan konsentrasi 0,010 M mampu membentuk kompleks dengan fosfat secara sempurna.



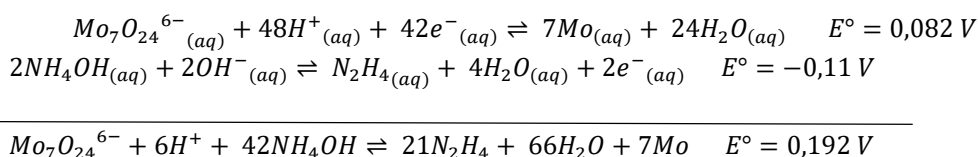
Gambar 4. Grafik pengaruh konsentrasi asam sulfat terhadap absorbansi senyawa kompleks fosfomolibdat

Penentuan fosfat dengan menggunakan metode biru molibdenum dilakukan dalam lingkungan asam untuk memberikan warna yang lebih pekat. Dalam penelitian ini, asam kuat H_2SO_4 digunakan sebagai agen pembentuk asam. Variasi konsentrasi yang dilakukan mulai dari (0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3 dan 1,5) M.

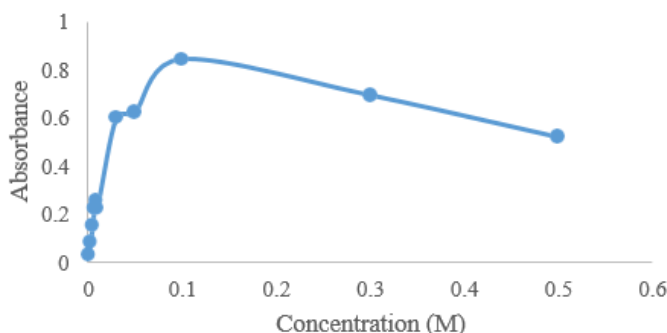
Berdasarkan hasil penentuan optimasi konsentrasi asam H_2SO_4 pada Gambar 5. Pada konsentrasi 0,1 M - 0,9 M terjadi peningkatan absorbansi. Selanjutnya pada konsentrasi 0,9 M - 1,5 M nilai absorbansi mengalami penurunan. Ketika konsentrasi H^+ meningkat menyebabkan perubahan warna senyawa kompleks yang tidak stabil sehingga menyebabkan pengukuran fosfat menjadi tidak akurat, oleh karena itu pengukuran fosfat tidak boleh dilakukan pada kadar H^+ yang rendah.. Alasan ini diperkuat bahwa asam kuat dengan konsentrasi yang tepat tidak hanya untuk pembentukan asam heteropoli tetapi juga memberikan intensitas warna yang terbaik. Sehingga hasil optimasi konsentrasi asam sulfat yang digunakan adalah 0,9 M.

Reduksi amonium molibdat menjadi kompleks fosfomolibdat terjadi ketika hidrazin mentransfer elektron secara langsung ke amonium molibdat. Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi konsentrasi zat pengoksidasi agar dihasilkan kompleks fosfomolibdat dalam jumlah yang maksimal. Pada penelitian ini, agen pereduksi yang digunakan adalah hidrazin sulfat dalam asam karena hidrazin sulfat memiliki energi potensial reduksi yang mampu mereduksi amonium molibdat menjadi kompleks fosfomolibdat.

Optimasi konsentrasi hidrazin sulfat menggunakan konsentrasi (0,001; 0,003; 0,005; 0,007; 0,009; 0,01; 0,03; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5) M. Kemudian absorbansi diukur dengan spektrofotometri UV. -Vis pada panjang gelombang maksimum 689 nm. Proses reduksi amonium molibdat menjadi kompleks fosfomolibdat berlangsung dalam lingkungan asam. Persamaan reaksi reduksi yang terjadi selama reduksi amonium molibdat oleh hidrazin sulfat disajikan pada persamaan berikut.



Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4. Konsentrasi hidrazin sulfat pada konsentrasi 0,001 M-0,1 M mengalami peningkatan absorbansi. Konsentrasi hidrazin sulfat berbanding lurus dengan jumlah konsentrasi fosfomolibdat yang terbentuk, hal ini mengindikasikan bahwa kompleks fosfomolibdat yang dihasilkan dari proses oksidasi amonium molibdat telah terbentuk. Selanjutnya pada konsentrasi hidrazin sulfat 0,1 M-0,5 M, nilai absorbansi mengalami penurunan, hal ini menandakan bahwa hidrazin sulfat tereduksi secara sempurna dan stabil. Jika terdapat kelebihan hidrazin sulfat, maka senyawa hidrazin tidak berfungsi sebagai donor gugus hidrogen yang dapat mereduksi secara sempurna.



Gambar 5. Grafik pengaruh konsentrasi hidrazin sulfat terhadap absorbansi senyawa kompleks fosfomolibdat

Persiapan Sampel

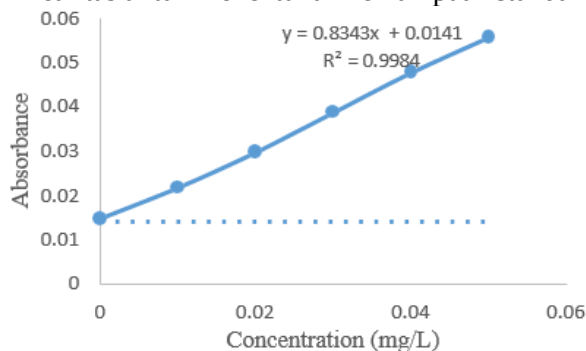
Pada penelitian ini, sampel daging bebek, ayam, dan daging sapi dibeli dari pasar Kranji. Sebelum menentukan kandungan sampel, dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu. Hal pertama yang

dilakukan adalah mencuci daging hingga bersih menggunakan air mengalir agar kotoran yang terdapat pada daging hilang. Kemudian mencacah atau memotong daging menjadi potongan-potongan kecil dan ditimbang sebanyak 5 gram. Sampel yang telah ditimbang disiapkan dengan cara destruksi basah. Proses destruksi untuk menguraikan sampel dan pelarut asam. Pada penelitian ini, asam yang digunakan adalah asam HNO_3 dan H_2O_2 sebagai peroksida, sementara itu HNO_3 merupakan oksidator yang baik.

Digesti basah pada penelitian ini dilakukan dengan cara melarutkan sampel dengan asam HNO_3 65% kemudian didiamkan selama 24 jam di dalam labu kjehdal. Setelah sampel larut sempurna atau larutan menjadi berwarna jingga keruh, dipanaskan secara perlahan pada suhu 100°C kemudian ditambahkan H_2O_2 30%, penambahan H_2O_2 berfungsi sebagai oksidator yang dapat menyempurnakan reaksi, kemudian larutan dipanaskan kembali secara perlahan pada suhu 200°C hingga larutan berwarna jernih, fungsi dari pemanasan tersebut sebagai katalisator untuk mempercepat proses destruksi. Destruksi dikatakan selesai apabila telah diperoleh larutan jernih yang menandakan bahwa semua konstituen telah terlarut sempurna atau perombakan senyawa organik telah berjalan dengan baik. Menurut Zhang et al. (2023) hasil larutan menunjukkan bahwa penggunaan H_2O_2 menghasilkan larutan yang tidak meninggalkan residu padatan organik, dan penggunaan H_2O_2 dapat mengurangi kandungan karbon pada larutan yang dihasilkan. Setelah semua bahan organik terurai sempurna dan proses penghancuran telah berakhir, larutan yang dihasilkan didinginkan. Kemudian larutan dipindahkan ke labu ukur 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas, lalu disaring menggunakan kertas saring, dan dimasukkan ke dalam botol dan disimpan untuk dilakukan pengujian.

Validasi Metode dan Analisis Fosfat

Linieritas adalah hubungan antara absorbansi larutan standar dan konsentrasi larutan itu sendiri. Menurut hukum Lambert-Beer, konsentrasi analit yang ada dalam larutan berbanding lurus dengan konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi larutan standar, maka semakin besar pula respon yang akan dihasilkan (absorbansi). Uji linearitas untuk menentukan kemampuan standar dalam mendeteksi analit.



Gambar 5. Kurva kalibrasi fosfat

Pada penelitian ini uji linieritas dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan standar. Larutan deret standar dibuat dengan variasi konsentrasi (0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05) ppm yang diambil dari larutan induk fosfat dengan konsentrasi 1000 ppm. Sebelum mengukur absorbansi larutan baku, terlebih dahulu diukur blanko yaitu kuvet yang telah diisi dengan reagen dan diklik "auto zero", setelah larutan blanko diukur, langkah selanjutnya adalah mengukur larutan baku standar menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 689 nm.

Hasil kurva kalibrasi linearitas di atas menghasilkan persamaan regresi $y = mx + b$ dimana y adalah absorbansi sampel, m adalah nilai kemiringan, x adalah konsentrasi sampel, dan b adalah nilai intersep pada kurva kalibrasi pada Gambar 9. Persamaan regresi $y = 0,8343x + 0,0141$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9984 menunjukkan bahwa uji linieritas memenuhi syarat dan metode dinyatakan valid dari segi linieritas metode analisis. Metode analisis dikatakan linier jika koefisien determinasi $> 0,995$. Pada penelitian yang dilakukan oleh Vaughan et al. (2018) Dalam penentuan fosfat pada air sungai dengan menggunakan amonium molibdat dan SnCl_2 diperoleh nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,914. Hal ini menunjukkan bahwa analisis fosfat dalam daging menggunakan amonium molibdat dengan hidrazin sulfat sebagai pereduksi memiliki linearitas yang lebih baik.

Hubungan antara absorbansi dan konsentrasi dapat ditentukan dengan hukum Lambert Beer, dan cahaya yang digunakan adalah cahaya monokromatik. Nilai sensitivitas dinyatakan sebagai absorptivitas molar (ϵ) Sensitivitas bergantung pada cahaya monokromatik dari suatu radiasi. Dengan adanya cahaya monokromatik pada bandwidth yang sangat dekat dengan λ maks, maka absorptivitas molar dapat diperoleh. Semakin besar nilai absorpsi molar suatu zat, maka semakin banyak cahaya yang diserap, atau dengan kata lain, semakin besar nilai absorbansinya.

Gambar 5. Menunjukkan hasil persamaan regresi $y = 0,8343x + 0,0141$ dengan koefisien korelasi (R_2) sebesar 0,9984. Hasil ini membuktikan bahwa amonium molibdat yang direduksi dengan hidrazin sulfat dapat mendeteksi fosfat secara kuantitatif dengan nilai sensitivitas sebesar $7,9259 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Nilai absorptivitas molar pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan analisis fosfat menggunakan pereduksi SnCl_2 , yaitu sebesar $1,430 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Hal ini didasarkan pada semakin besar nilai absorptivitas molar (ϵ) yang dinyatakan dalam $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, maka semakin sensitif metode analisis yang digunakan, sehingga nilai ϵ pada penelitian analisis fosfat menggunakan reduksi hidrazin sulfat memiliki sensitivitas yang baik dibandingkan dengan analisis fosfat menggunakan pereduksi SnCl_2 .

Limit of Detection (LOD) adalah konsentrasi terendah analit yang dapat dideteksi, tetapi tidak perlu ditentukan secara kuantitatif sampai diperoleh nilai yang pasti. Sedangkan Limit of Quantification (LOQ) adalah konsentrasi analit terendah yang dapat diukur secara kuantitatif dengan akurat dan presisi oleh suatu alat/instrumen. Penentuan Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ) dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan metode kurva kalibrasi, signal to noise dan penentuan blanko (Oleneva et al., 2019). Dalam penelitian ini nilai *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ) dilakukan dengan metode larutan blanko/pelarut dihitung absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 689 nm sebanyak 10 kali pengulangan. Hasil LOD berdasarkan perhitungan sebesar $5,25 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$ hal ini menunjukkan bahwa metode ini mampu mendeteksi kadar dalam analit sebesar $5,25 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$. Nilai LOQ yang diperoleh adalah $1,59 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$. Nilai ini menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih memenuhi kriteria. Penentuan LOD dan LOQ dihitung melalui persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Kedua nilai tersebut menunjukkan batas terkecil analit yang masih dapat dideteksi oleh instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Batas deteksi analisis fosfor yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ngibad (2019) pada analisis fosfor air sungai menggunakan SnCl_2 yang memiliki batas deteksi 1 mg/L dan batas kuantisasi 4 mg/L . Semakin rendah hasil pengukuran maka semakin baik metode yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa analisis kandungan fosfor menggunakan SnCl_2 tidak memberikan akurasi yang baik.

Presisi dinyatakan sebagai nilai Standar Deviasi (SD) atau persen simpangan baku relatif (%RSD) dari keterulangan. Pada penelitian ini, pengujian dilakukan dengan menguji sampel pada panjang gelombang maksimum fosfat sebanyak 5 kali pengulangan pada hari yang sama. Hasil pengujian presisi disajikan pada Tabel 3.

Tabel 1. Hasil penentuan presisi fosfat

Sample	X	$\bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$	SD	RSD (%)
Duck	0.343	0,343	0	4.58×10^{-3}	1.33
	0.338		2.5×10^{-5}		
	0.350		4.9×10^{-5}		
	0.344		1×10^{-6}		
	0.340		9×10^{-6}		
Chicken	0.409	0,407	1×10^{-6}	5.47×10^{-3}	1.34
	0.412		4×10^{-6}		
	0.410		9×10^{-6}		
	0.398		1×10^{-6}		
	0.406		8.1×10^{-5}		
Cow	0.254	0,252	4×10^{-6}	2.73×10^{-3}	1.08
	0.252		0		
	0.248		1.6×10^{-5}		
	0.255		9×10^{-6}		
	0.251		1×10^{-6}		

Berdasarkan Tabel 1 presisi ditentukan oleh simpangan baku relatif (RSD), hasil pada setiap sampel adalah <2%. Metode analisis dikatakan presisi jika memberikan nilai simpangan baku relatif (RSD) kurang dari < 2%. Berdasarkan hasil perhitungan nilai presisi uji, nilai RSD untuk sampel bebek sebesar 1,33%, sampel ayam sebesar 1,34% dan sampel sapi sebesar 1,08%. Nilai RSD yang baik dan diperbolehkan adalah < 2%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode analisis memiliki presisi yang baik dibuktikan dengan pengulangan yang tidak memberikan perbedaan yang signifikan antara setiap pengulangan dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Dayrell et al. (2021) Penentuan kadar fosfat daun jati menggunakan spektrofotometri UV-Vis memiliki nilai %RSD sebesar 6,75 % dimana nilai tersebut melebihi batas penerimaan %RSD menurut SNI 06-6989.31-2005.

Parameter akurasi merupakan kedekatan hasil analisis yang diperoleh suatu metode analisis dengan nilai sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai nilai persen perolehan kembali (% recovery) sampel analit yang ditambahkan. Pada penelitian ini, penentuan akurasi dilakukan dengan menggunakan metode adisi standar atau adisi baku, yaitu dengan menambahkan sejumlah sampel yang akan dianalisis dengan larutan standar analit yang telah diketahui konsentrasinya kemudian dianalisis. Hasil perhitungan akurasi pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 nilai rata-rata % recovery yang diperoleh pada sampel bebek sebesar 102,6%, sampel ayam sebesar 112,1% dan sampel sapi sebesar 97,2%.

Tabel 2. Hasil penentuan akurasi fosfat

Sampel	PO_4^{3-} yang ditambah (mgL^{-1})	Absorbansi rata-rata	Ca	Cb	Cs	Recovery (%)
Duck	0	0.34				
	0.01	0.354	0.41	0.4	9.4×10^{-3}	106.3
	0.02	0.364	0.419	0.4	0.02	95
	0.03	0.371	0.427	0.4	0.03	90
	0.04	0.385	0.444	0.4	0.04	110
	0.05	0.395	0.456	0.4	0.05	112
Chicken	0	0.403				
	0.01	0.416	0.481	0.47	9.4×10^{-3}	101.17
	0.02	0.425	0.492	0.47	0.02	110
	0.03	0.435	0.504	0.47	0.03	113.3
	0.04	0.444	0.515	0.47	0.04	112.5
	0.05	0.452	0.524	0.47	0.05	108
Cow	0	0.25				
	0.01	0.263	0.298	0.29	9.4×10^{-3}	85.1
	0.02	0.273	0.31	0.29	0.02	100
	0.03	0.28	0.318	0.29	0.03	93.3
	0.04	0.289	0.329	0.29	0.04	97.5
	0.05	0.302	0.345	0.29	0.05	110

Keterangan :

Ca = Konsentrasi fosfat total yang diperoleh dari pengukuran ($mg L^{-1}$)

Cb = Konsentrasi fosfat aktual ($mg L^{-1}$)

Cs = Konsentrasi fosfat yang ditambahkan ($mg L^{-1}$)

Setelah metode analisis divalidasi dengan parameter tertentu, maka metode analisis dapat diterapkan untuk menentukan kandungan fosfat dalam sampel. Penentuan kandungan fosfat dalam sampel dilakukan dengan metode adisi standar. Adisi standar merupakan teknik analisis yang dilakukan dengan menambahkan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam sampel penelitian, dengan tujuan untuk menyamakan matriks antara sampel dan standar. Variasi konsentrasi larutan standar yang ditambahkan ke dalam sampel adalah (0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan 0,05) ppm. Larutan standar dan sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan amonium molibdat dan hidrazin sulfat yang berfungsi sebagai pembentuk kompleks berwarna biru. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 689 nm dan kemudian dihitung menggunakan persamaan regresi kurva adisi standar. Hasil perhitungan kadar sampel disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil kadar fosfat dalam sampel daging

Sampel	PO_4^{3-} yang ditambah (mgL^{-1})	Absorbansi	PO_4^{3-} (mg/g)
Duck	0	0.34	1.493
	0.01	0.354	
	0.02	0.364	
	0.03	0.371	
	0.04	0.385	
	0.05	0.395	
Chicken	0	0.403	0.206
	0.01	0.416	
	0.02	0.425	
	0.03	0.435	
	0.04	0.444	
	0.05	0.452	
Cow	0	0.25	0.522
	0.01	0.263	
	0.02	0.273	
	0.03	0.28	
	0.04	0.289	
	0.05	0.302	

Setelah dilakukan perhitungan sampel, kandungan fosfor yang diperoleh pada sampel daging bebek adalah 1,493 mg/g, kandungan fosfor pada daging ayam adalah 0,206 mg/g, dan pada daging sapi adalah 0,522 mg/g. Menurut Persagi (2009), kadar fosfor yang diperbolehkan untuk dikonsumsi oleh tubuh manusia pada sampel daging bebek sebesar 1,88 mg/g, untuk daging ayam sebesar 2 mg/g dan daging sapi sebesar 1,7 mg/g. Berdasarkan data yang telah diperoleh untuk sampel daging bebek, daging ayam dan daging sapi tidak melebihi standar mutu keamanan pangan.

Kesimpulan

Analisis fosfat menggunakan amonium molibdat pada kondisi asam yang direduksi dengan hidrazin sulfat menghasilkan senyawa kompleks fosfomolibdat dengan panjang gelombang maksimum 689 nm. Metode analisis fosfat menggunakan pereaksi amonium molibdat dalam kondisi asam secara spektrofotometri UV-Vis telah memenuhi persyaratan validasi metode analisis yang memiliki linearitas, sensitivitas, LOD, LOQ, presisi, dan akurasi yang baik. Hasil analisis kandungan fosfat pada sampel daging bebek sebesar 1,493 mg/g, daging ayam 0,206 mg/g dan daging sapi 0,522 mg/g tidak melebihi standar baku mutu keamanan pangan menurut Persatuan Ahli Gizi Indonesia (PERSAGI) tahun 2009.

Daftar Pustaka

- Altundag, H., Agar, S., Altıntig, E., Ates, A., & Sivrikaya, S. (2019). Use of ion chromatography method on the determination of some anions in the water collected from Sakarya, Turkey. *Journal of Chemical Metrology*, 13(1), 14–20. <https://doi.org/10.25135/jcm.26.19.03.1221>
- Chiles, R. M., & Fitzgerald, A. J. (2018). Why is meat so important in Western history and culture? A genealogical critique of biophysical and political-economic explanations. *Agriculture and Human Values*, 35(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10460-017-9787-7>
- Dayrell, R. L. C., Cawthray, G. R., Lambers, H., & Ranathunge, K. (2021). Using activated charcoal to remove substances interfering with the colorimetric assay of inorganic phosphate in plant extracts. *Plant and Soil*, 476(1-2), 755–764. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05195-2>

- Dell'Aquila, C., Neal, A. L., & Shewry, P. R. (2020). Development of a reproducible method of analysis of iron, zinc and phosphorus in vegetables digests by SEC-ICP-MS. *Food Chemistry*, 308, 125652. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125652>
- Donat-Vargas, C., Guallar-Castillon, P., Nyström, J., Larsson, S. C., Kippler, M., Vahter, M., Faxén-Irving, G., Michaelsson, K., Wolk, A., Stenvinkel, P., & Åkesson, A. (2023). Urinary phosphate is associated with cardiovascular disease incidence. *Journal of Internal Medicine*, 294(3), 358–369. <https://doi.org/10.1111/joim.13686>
- Duvall, E. S., Griffiths, B. M., Clauss, M., & Abraham, A. J. (2023). Allometry of sodium requirements and mineral lick use among herbivorous mammals. *Oikos*, 2023(9). <https://doi.org/10.1111/oik.10058>
- Ganesh, S., Khan, F., Ahmed, M. K., Velavendan, P., Pandey, N. K., & Kamachi Mudali, U. (2012). Spectrophotometric determination of trace amounts of phosphate in water and soil. *Water Science and Technology*, 66(12), 2653–2658. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.468>
- Hernando, N., Gagnon, K., & Lederer, E. (2021). Phosphate Transport in Epithelial and Nonepithelial Tissue. *Physiological Reviews*, 101(1), 1–35. <https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2019>
- Hou, Y.-C., Zheng, C.-M., Chiu, H.-W., Liu, W.-C., Lu, K.-C., & Lu, C.-L. (2022). Role of Calcimimetics in Treating Bone and Mineral Disorders Related to Chronic Kidney Disease. *Pharmaceuticals*, 15(8), 952. <https://doi.org/10.3390/ph15080952>
- Jastrzębska, A. (2009). Modifications of spectrophotometric methods for total phosphorus determination in meat samples. *Chemical Papers*, 63(1). <https://doi.org/10.2478/s11696-008-0091-2>
- Krieg, J., Stalljohann, G., Oster, M., Pfuhl, R., Reckels, B., Preissinger, W., Weber, M., Meyer, A., Feuerstein, D., & Schneider, S. (2023). Stepwise Reduction of Dietary Phosphorus in Diets for Piglets and Fattening Pigs of Different Genetic Origin Housed under Various Station Environments—A Ringtest. *Animals*, 13(11), 1774–1774. <https://doi.org/10.3390/ani13111774>
- Ma, Q., Li, C., Wang, B., Ma, X., & Jiang, L. (2021). Wavelength selection of terahertz time-domain spectroscopy based on a partial least squares model for quantitative analysis. *Applied Optics*, 60(19), 5638–5638. <https://doi.org/10.1364/ao.427238>
- Marbà, B. L., Remus, A., & Pomar, C. (2023). 281 Modeling How the Inclusion of Fibrous By-Products to the Feed Improves the Net Protein Contribution of Pork Meat. *Journal of Animal Science/Journal of Animal Science ... And ASAS Reference Compendium*, 101(Supplement_3), 207–207. <https://doi.org/10.1093/jas/skad281.250>
- Mironov, N., Haque, M., Atfi, A., & Razzaque, M. S. (2022). Phosphate Dysregulation and Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 14(21), 4477. <https://doi.org/10.3390/nu14214477>
- Ngibad, K. (2019). Analisis Kadar Fosfat Dalam Air Sungai Ngelom Kabupaten Sidoarjo Jawa Timur. *Jurnal Pijar Mipa*, 14(3), 197. <https://doi.org/10.29303/jpm.v14i3.1158>
- Oleneva, E., Khaydukova, M., Ashina, J., Yaroshenko, I., Jahatspanian, I., Legin, A., & Kirsanov, D. (2019). A Simple Procedure to Assess Limit of Detection for Multisensor Systems. *Sensors*, 19(6), 1359. <https://doi.org/10.3390/s19061359>
- Peacock, M. (2020). Phosphate Metabolism in Health and Disease. *Calcified Tissue International*, 108(1), 3–15. <https://doi.org/10.1007/s00223-020-00686-3>
- Phouthavong, V., Manakasettharn, S., Viboonratanasri, D., Buajarern, S., Prompinit, P., & Sreenonchai, K. (2021). Colorimetric determination of trace orthophosphate in water by using C18-functionalized silica coated magnetite. *Scientific Reports*, 11(1), 23073. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02516-4>

- Pokhrel, M. R., Adhikari, S., Subedi, K., Dhungana, S., & Poudel, B. R. (2022). Spectrophotometric determination of phosphate in presence of arsenate. *Scientific World*, 15(15), 10–17. <https://doi.org/10.3126/sw.v15i15.45636>
- Rohit, N., Patel, Y., Ghatol, P. W., Srinivas, P., & Chakraborty, G. S. (2023). A Systematic Review on Hyperphosphatemia in Chronic Kidney Disease. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 79(2). <https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2023.v79i02.021>
- Smith, N. W., Fletcher, A. J., Hill, J. P., & McNabb, W. C. (2022). Modeling the Contribution of Meat to Global Nutrient Availability. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.766796>
- Tang, X., Liu, X., & Hu, L. (2021). Mechanisms of Epidermal Growth Factor Effect on Animal Intestinal Phosphate Absorption: A Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.670140>
- Vaughan, M. C. H., Bowden, W. B., Shanley, J. B., Vermilyea, A., Wemple, B., & Schroth, A. W. (2018). Using in situ UV-Visible spectrophotometer sensors to quantify riverine phosphorus partitioning and concentration at a high frequency. *Limnology and Oceanography: Methods*, 16(12), 840–855. <https://doi.org/10.1002/lom3.10287>
- Wieczorek, D., Żyska-Haberecht, B., Kafka, A., & Lipok, J. (2022). Determination of phosphorus compounds in plant tissues: from colourimetry to advanced instrumental analytical chemistry. *Plant Methods*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s13007-022-00854-6>
- Zhang, J., Ying, Y., Yi, X., Han, W., Yin, L., Zheng, Y., & Zheng, R. (2023). H₂O₂ Solution Steaming Combined Method to Cellulose Skeleton for Transparent Wood Infiltrated with Cellulose Acetate. *Polymers*, 15(7), 1733. <https://doi.org/10.3390/polym15071733>