

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian tentang analisis kandungan logam dalam serbuk kunyit yang tersedia di Pasar Srilanka melaporkan adanya logam Na, Mg, K, dan Ca dengan kadar berturut-turut yaitu 203,2; 1915,1; 25651,9; dan 869,9  $\mu\text{g/g}$ . Selain itu kandungan logam Fe, Mn, Cu, Zn, dan Cr dalam serbuk kunyit secara berturut-turut yaitu 203,6; 21,6; 4,4; 17,0 dan 48,4  $\mu\text{g/g}$ . Kandungan logam berat seperti Ni, Pb, dan Cd dalam serbuk kunyit secara berturut-turut yaitu 14,4; 380,2; dan 195,3  $\mu\text{g/g}$  (Withanage *et al.*, 2015).

Penelitian mengenai cemaran timbal (Pb) pada obat tradisional maupun bahan baku obat tradisional telah ditemukan di beberapa negara seperti Indonesia. Penelitian tentang kandungan logam berat dalam bahan baku produk rempah dari pasar di Kota Pontianak menunjukkan bahwa sampel kunyit mengandung kadar logam Hg, Pb, AS, Cr, dan Cd secara berturut-turut yaitu  $< 0,004$ ; 1,140;  $< 0,001$ ; 0,552; dan  $< 0,002$  ppm. Dari penelitian tersebut ditemukan bahwa timbal (Pb) merupakan logam berat yang paling tinggi kadarnya dibanding logam berat lainnya dalam sampel kunyit (Cahyanto, 2015).

Kandungan logam timbal (Pb), kadmium (Cd), dan merkuri (Hg) dalam produk jamu pegal linu yang beredar di Kota Pekanbaru memiliki perbedaan kadardalam setiap merek jamu pegal linu yang digunakan sebagai sampel. Analisis terhadap 6 sampel jamu pegal linu yang diambil secara acak, semuanya mengandung logam merkuri (Hg) dengan masing-masing kadar sebesar 0,29; 1,79; 0,21; 1,82; 0,87; dan 0,67 mg/Kg. Sebanyak 5 sampel mengandung logam timbal (Pb) dengan masing-masing kadar sebesar 34,94; 10,00; 14,20; 9,20; dan 20,40 mg/Kg. Hanya 1 sampel mengandung logam kadmium (Cd) sebesar 0,2 mg/Kg (Husna *et al.*, 2015).

Penelitian terdahulu menjadi acuan dilaksanakannya penelitian ini. Dilihat dari hasil penelitian terdahulu, terdapat perbedaan pada sampel yang digunakan dalam penelitian.

## 2.2 Landasan Teori

### 2.2.1 Obat Tradisional

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan berasal dari bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan adat-istiadat yang berlaku di masyarakat (Permenkes, 2012). Ciri dari obat tradisional yaitu bahan bakunya masih berupa simplisia yang sebagian besar belum mengalami standarisasi dan belum pernah diteliti. Bentuk sediaan masih sederhana berupa serbuk, pil, seduhan atau rajangan simplisia, klaim khasiatnya masih berdasarkan data empiris (Anggraeni, 2015).

Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor HK. 00.05.4.2411 tahun 2004 tentang ketentuan pokok pengelompokan dan penandaan obat dalam bahan alam Indonesia mengelompokkan obat tradisional kedalam 3 kelompok yaitu jamu, obat herbal terstandar dan fitofarmaka. Persyaratan ketiga sediaan berbeda yaitu untuk jamu pemakaiannya secara empirik berdasarkan pengalaman. Sediaan herbal terstandar bahan bakunya harus distandarisasi dan sudah diuji farmakologi secara eksperimen. Sedangkan sediaan fitofarmaka sama dengan obat modern, bahkan harus distandarisasi dan harus melalui uji klinik (BPOM, 2004).

Berdasarkan penggunaannya, produk jadi obat tradisional dapat diklasifikasikan menjadi obat dalam dan obat luar. Bentuk sediaan obat dalam dapat berupa:

- a. Sediaan rajangan
- b. Sediaan serbuk simplisia
- c. Sediaan serbuk instan, serbuk efervesen
- d. Sediaan granul, pil, kapsul, kapsul lunak, tablet/kaplet, tablet efervesen, tablet hisap, pastiles. Dalam hal ini, kapsul hanya dapat berisi ekstrak.

e. Sediaan lainnya, berupa dodol/jenang, film strip dan cairan obat dalam.

Serbuk Instan adalah salah satu produk jadi obat tradisional berupa sediaan obat dalam. Serbuk Instan termasuk sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang sesuai, terbuat dari ekstrak yang cara penggunaannya diseduh dengan air panas atau dilarutkan dalam air dingin. Serbuk Instan harus memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan seperti yang disebutkan dalam Peraturan Kepala Badan POM No.12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional.

Menurut Peraturan Kepala Badan POM No.12 tahun 2014, persyaratan mutu obat tradisional meliputi mutu bahan baku dan mutu produk jadi. Bahan baku adalah semua bahan awal yang berkhasiat maupun tidak berkhasiat, yang berubah maupun tidak berubah, yang digunakan dalam pengolahan obat tradisional. Mutu bahan baku ditetapkan dengan mengacu pada pedoman persyaratan mutu menurut Materia Medika Indonesia atau Farmakope Herbal Indonesia. Apabila dalam kedua pedoman tersebut tidak terdapat jenis bahan baku yang diinginkan, maka dapat menggunakan pedoman lain berupa farmakope dari negara lain atau referensi ilmiah yang diakui.

Adapun mutu produk jadi ditetapkan berdasarkan parameter uji organoleptik, kadar air, cemaran mikroba, aflatoksin total, cemaran logam berat, keseragaman bobot, waktu hancur, volume terpindahkan, pH, dan bahan tambahan. Bahan tambahan adalah komponen obat tradisional yang dimaksudkan sebagai zat, pelarut, pelapis, pembantu, dan zat yang dimaksudkan untuk mempertinggi kegunaan, kemantapan, keawetan, atau sebagai zat warna dan tidak mempunyai efek farmakologis. Ketentuan tiap parameter penetapan mutu produk jadi obat tradisional berbeda-beda sesuai dengan bentuk sediaan dan penggunaannya (BPOM, 2014).

### 2.2.2 Timbal

Timbal (Pb) termasuk dalam kelompok logam berat golongan IVA dalam Sistem Periodik Unsur kimia, mempunyai nomor atom 82 dengan berat atom 207,2 berbentuk padat pada suhu kamar, bertitik lebur 327,4°C dan memiliki berat jenis sebesar 11,4/l (Gusnita, 2012).

Sifat-sifat dan kegunaan logam ini adalah :

- a. Mempunyai titik lebur yang rendah sehingga mudah digunakan dan murah biaya operasinya
- b. Mudah dibentuk karena logam ini lunak.
- c. Mempunyai sifat kimia yang aktif sehingga dapat digunakan untuk melapisi logam untuk mencegah perkaratan
- d. Bila dicampur dengan logam lain membentuk logam campuran yang lebih bagus dari pada logam murninya
- e. Kepadatannya melebihi logam lain

(Darmono, 1995).

Timbal (Pb) dihasilkan dari pembakaran yang kurang sempurna pada mesin kendaraan. Logam Pb di alam tidak dapat didegradasi atau dihancurkan dan disebut juga dengan *non essential trace element* yang paling tinggi kadarnya, sehingga sangat berbahaya jika terakumulasi pada tubuh dalam jumlah yang banyak (Gusnita, 2012).

Paparan timbal terhadap manusia dapat terjadi melalui inhalasi dan saluran pencernaan yang berpengaruh terhadap kesehatan manusia khususnya pada anak-anak (Hu, 2014). Selain berasal dari akibat tindakan mengonsumsi makanan, minuman maupun melalui inhalasi dari udara, paparan timbal juga bisa terjadi melalui kontak kulit, mata, maupun parenteral (Widowati, 2008).

Toksisitas timbal (Pb) terjadi saat kadar timbal dalam darah lebih dari 40-60 µg/dL (Flora *et al.*, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jiwan dan Ajay (2011), keracunan timbal dapat menyebabkan disfungsi ginjal, sistem reproduksi, hati dan otak. Keracunan oleh timbal

juga dapat menyebabkan terganggunya sintesis hemoglobin, sistem kardiovaskular, kerusakan akut dan kronis pada sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer (Jiwan dan Ajay, 2011).

Gejala yang khas dari keracunan Pb dibagi menjadi 3 bentuk yaitu :

a. Gastroenteritis

Ini disebabkan oleh reaksi rangsangan garam Pb pada mukosa saluran pencernaan yang menyebabkan pembengkakan dan gerak kontaksi rumen usus terhenti, peristaltik usus menurun sehingga terjadi konstipasi dan kadang-kadang diare.

b. Anemia

Timbal terbawa dalam darah dan lebih dari 95 % berikatan dengan eritrosit. Ini menyebabkan mudah pecahnya sel darah merah dan berpengaruh terhadap sintesis Hb, sehingga menyebabkan anemia. Anemia ini ditandai dengan anisositosis, polikromasia, jumlah retikulosit naik dan juga sel darah bernukleus. Ditemukan basofilik stipling merupakan ciri khas keracunan Pb.

c. Ensefalopati

Timbal menyebabkan kerusakan sel endotel dan kapiler di otak. Pada umumnya barrier darah otak sangat mudah dialahi oleh air, CO<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub> tetapi sedikit permeabel terhadap elektrolit Na, Cl dan K, dan impermeabel oleh sulfur dan logam berat. Pada saat endotelial rusak, bentuk protein yang berukuran besar dapat lewat dan masuk kedalam otak. Tekanan osmosis cairan ekstraseluler yang memenuhi otak mengakibatkan oedema otak. Kapiler darah otak ini sangat peka terhadap keracunan Pb (Darmono, 1995).

### 2.2.3 Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) adalah metode analisis yang secara luas digunakan untuk penentuan logam secara kuantitatif. Tingkat energi atom bersifat spesifik dan ditentukan oleh bilangan kuantum. Atom akan tertarik oleh UV dan jika panjang gelombang atau frekuensi sesuai dengan transisi maka,

maka akan terserap. Seperti teknik spektrometri lainnya, tingkat absorpsi pada spektrofotometri serapan atom akan tergantung pada konsentrasi (Kealey & Haines, 2002).

Cara Kerja Spektrofotometri serapan atom berdasarkan larutan sampel, kemudian logam yang terkandung di dalamnya diubah menjadi atom bebas. Atom tersebut mengabsorpsi radiasi dari sumber cahaya yang *dipancarkan* lampu katoda (*hallow cathode lamp*) yang mengandung unsur yang akan ditentukan. Banyaknya penyerapan radiasi kemudian diukur pada panjang gelombang tertentu menurut jenis logamnya (Darmono, 1995).

#### 2.2.3.1 Penyiapan Sampel dalam Spektrofotometer Serapan Atom

Destruksi merupakan suatu perlakuan pemecahan senyawa menjadi unsur-unsurnya sehingga dapat dianalisis. Istilah destruksi disebut juga perombakan, yaitu dari bentuk organik logam menjadi bentuk logam-logam anorganik. Pada dasarnya ada dua jenis destruksi yang dikenal dalam ilmu kimia yaitu destruksi basah (oksida basah) dan destruksi kering (oksida kering). Kedua destruksi ini memiliki teknik pengerjaan dan lama pemanasan atau pendestruksian yang berbeda (Kristianingrum, 2012).

##### 2.2.3.1.1 Metode destruksi basah

Destruksi basah adalah perombakan sampel dengan asam-asam kuat baik tunggal maupun campuran, kemudian dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator. Pelarut-pelarut yang dapat digunakan untuk destruksi basah diantaranya asam nitrat, asam sulfat, asam perklorat, dan asam klorida. Kesempurnaan destruksi ditandai dengan diperolehnya larutan jernih pada larutan destruksi yang menunjukkan bahwa semua konstituen yang ada telah larut sempurna atau perombakan senyawa-senyawa organik telah berjalan dengan baik (Kristianingrum, 2012).

Larutan asam nitrat pekat merupakan asam yang paling efektif dan paling sering digunakan dalam destruksi basah karena dapat memecah sampel menjadi yang mudah terurai dan larutan asam nitrat sendiri sukar menguap (Dewi, 2012). preparasi sampel dengan metode destruksi basah dilakukan pada suhu rendah dan dengan penambahan campuran asam kuat untuk mendestruksi senyawa organik dan bahan lain dalam sampel. Metode destruksi basah lebih sering dilakukan untuk analisis sampel yang mudah menguap. Keuntungan dengan metode analisis ini adalah waktu dan proses pengerjaannya lebih cepat, kehilangan mineral akibat penguapan dapat dihindari (Gandjar dan Rohman, 2007).

Terdapat dua sistem Destruksi Basah, yaitu sistem destruksi basah terbuka dan sistem destruksi basah tertutup. Sistem destruksi basah terbuka merupakan campuran sampel dan reagen asam dipanaskan secara terbuka dengan *hot plate*. Sedangkan sistem destruksi basah tertutup merupakan reaksi pelarutan dan pemecahan dilakukan dalam wadah tertutup yang lebih aman terhadap penguapan dan pemuaiian dari bahan (Namik, 2006). Destruksi basah menggunakan refluks merupakan metode destruksi tertutup konvensional yang digunakan untuk analisis timbal dalam suatu sampel (Kalaskar, 2012).

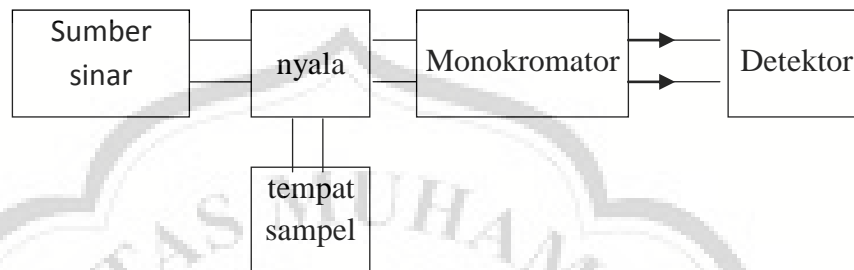
#### 2.2.3.1.2 Metode Destruksi Kering

Destruksi kering merupakan perombakan organik logam di dalam sampel menjadi logam-logam anorganik dengan jalan pengabuan sampel dalam *muffle furnace* dan memerlukan suhu pemanasan tertentu. Pada umumnya dalam destruksi kering ini dibutuhkan suhu pemanasan antara 400-800°C, tetapi suhu tersebut sangat tergantung

pada jenis sampel yang akan dianalisis (Kristianingrum, 2012).

#### 2.2.3.2. Instrumentasi

Sistem peralatan spektrofotometer serapan atom :



**Gambar 2.2 Sistem peralatan Spektrofotometer Serapan Atom**

(Gandjar & Rahman, 2007)

Suatu spektrofotometer serapan atom terdiri atas komponen berikut:

##### a. Sumber Cahaya

Sumber sinar yang lazim dipakai adalah lampu katoda berongga (*hollow cathode lamp*). Lampu ini terdiri atas tabung kaca tertutup yang mengandung suatu katoda dan anoda. Katoda sendiri berbentuk silinder berongga yang terbuat dari logam atau dilapisi dengan logam tertentu. Tabung logam ini diisi dengan gas mulia (neon atau argon) dengan tekanan rendah (10-15 torr). Bila antara anoda dan katoda diberi suatu selisih tegangan tinggi (600 volt), maka katoda akan memancarkan berkas-berkas elektron yang bergerak menuju anoda yang mana kecepatan dan energinya sangat tinggi. Elektron-elektron dengan energi tinggi ini dalam perjalanannya menuju anoda akan bertabrakan dengan gas-gas mulia yang diisikan tadi. Akibat dari tabrakan-tabrakan ini membuat unsur-unsur gas mulia akan kehilangan elektron dan menjadi ion bermuatan positif. Ion-ion gas mulia yang bermuatan positif ini selanjutnya akan bergerak ke katoda dengan kecepatan dan energi yang tinggi pula. Pada katoda terdapat unsur- unsur yang sesuai

dengan unsur yang akan dianalisis. Unsur-unsur ini akan ditabrak oleh ion-ion positif gas mulia. Akibat tabrakan ini, unsur-unsur akan terlempar keluar dari permukaan katoda. Atom-atom unsur dari katoda ini kemudian akan mengalami eksitasi ke tingkat energi elektron yang lebih tinggi dan akan memancarkan spektrum pancaran dari unsur yang sama dengan unsur yang akan dianalisis (Gandjar & Rohman, 2007).

b. Tempat Sampel

Dalam analisis dengan spektrofotometer serapan atom, sampel yang akan dianalisis harus diuraikan menjadi atom-atom netral yang masih dalam keadaan asas. Ada berbagai macam alat yang dapat digunakan untuk mengubah suatu sampel menjadi uap atom-atom yaitu: dengan nyala (*flame*) dan dengan tanpa nyala (*flameless*) (Gandjar & Rohman, 2007).

c. Nyala

Bahan bakar biasanya berupa udara/asetilen menghasilkan nyala dengan suhu  $\pm 2500^{\circ}\text{C}$ . Dinitrogen oksida/asetilen dapat digunakan untuk menghasilkan nyala dengan suhu sampai  $3000^{\circ}\text{C}$ , yang diperlukan untuk menguapkan garam-garam dari unsur-unsur seperti aluminium atau kalsium (Watson, 2007).

d. Monokromator

Monokromator digunakan untuk menyempitkan lebar pita radiasi yang sedang diperiksa sehingga diatur untuk memantau panjang gelombang yang sedang dipancarkan oleh lampu katoda berongga. Ini menghilangkan interferensi oleh radiasi yang dipancarkan dari nyala tersebut, dari gas pengisi di dalam lampu katoda rongga, dan dari unsur-unsur lain di dalam sampel tersebut (Watson, 2007).

e. Detektor

Detektor merupakan sel fotosensitif (Watson, 2007). Detektor digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang melalui tempat pengamatan. Biasanya digunakan tabung penggandaan foton. Tenaga listrik yang dihasilkan dari detektor kemudian diteruskan ke amplifier, setelah itu baru diteruskan ke sistem pembacaan (Bahri, 2011).

### 2.2.3.3 Gangguan-Gangguan pada Spektrofotometri Serapan Atom

- a. Gangguan utama dalam absorpsi atom adalah efek matriks yang dapat mempengaruhi jumlah atom bebas yang mencapai sinar (*optical path*) untuk diserap (Day dan Underwood, 2002). Gangguan Matriks disebabkan karena perbedaan sifat-sifat fisis seperti viskositas dan tegangan permukaan antara sampel dan larutan standar. Hal ini disebabkan oleh sampel yang mengandung garam/asam, suhu yang berbeda atau karena pelarut yang berbeda antara sampel dan standar. Untuk mengatasi gangguan ini dapat dilakukan dengan: 1) Menyamakan komponen matriks antara standar dan sampel. Beberapa reagen yang ditambahkan pada sampel selama preparasi juga harus ditambahkan pada standar. 2) Dengan pengenceran sampel sampai efek-efek garam/asam yang larut terabaikan. 3) Sampel dan standar harus didinginkan sampai mencapai temperatur yang sama sebelum diinjeksikan. 4) Penambahan standar adisi (Haswell, 1991).
- b. Gangguan kimia yang dapat mempengaruhi jumlah/banyaknya atom yang terjadi dalam nyala (Gandjar dan Rohman, 2007). Gangguan kimia terjadi apabila unsur yang dianalisis mengalami reaksi kimia dengan anion atau kation tertentu dengan senyawa yang refraktori, sehingga tidak semua analit dapat teratomisasi. Penyebab dari gangguan kimia terjadi karena reaksi kimia antara pengotor/pengganggu dengan analit yang menghasilkan senyawa stabil secara thermal. Senyawa stabil tersebut dapat berupa: 1) Pembentukan garam ahuninat, silikat, phosphate dan sulfat pada penentuan logam-logam terutama logam alkali tank. Contoh: pengaruh phosphate pada penentuan Ca. Pada penggunaan nyala udara-asetilen senyawa phosphate  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  tidak dapat terdisosiasi total, ketika konsentrasi phosphate bertambah, absorbansi Ca berkurang. 2) Pembentukan senyawa refraktori oxida akibat reaksi antara gas oksigen dan atom analit pada nyala udara-asetilen sehingga mengakibatkan pengurangan pembentukan atom-atom gas pada keadaan dasar dan menyebabkan

sensitifitas berkurang. Untuk mengatasi gangguan kimia dapat dilakukan dengan: 1) Penggunaan suhu nyala yang lebih tinggi akan dengan mudah mendekomposisikan sampel, dapat dilakukan dengan menggunakan nyala  $N_2O$ -asetilen yang lebih panas daripada udara-asetilen. 2) Penggunaan Releasing agent seperti EDTA, La/Sr, polyhidroxi alkohol. 3) Menambah kecepatan aliran bahan bakar untuk mengurangi pembentukan refraktori oksida (Haswell, 1991).

- c. Absorpsi Latar Belakang (Background), merupakan istilah yang digunakan untuk menunjukkan adanya berbagai pengaruh, yaitu absorpsi oleh nyala api, absorpsi molekular, dan penghamburan cahaya. Gangguan absorpsi latar belakang disebabkan oleh: 1) Penghamburan cahaya *hollow cathode* oleh partikel-partikel gas dalam nyala. 2) Absorpsi molekular yang tidak stabil secara thermal cahaya *hollow cathode* oleh molekul-molekul dalam nyala. Contoh: : absorpsi/penghamburan oksida-oksida, hidroksida, molekul hidrogen, OH radikal, atom dari bagian-bagian fragmen molekul pelarut, akibatnya cahaya yang diteruskan menjadi berkurang dan absorpsi sinyal bertambah. Untuk mengatasi gangguan ini dapat dilakukan dengan: 1) Penggunaan nyala temperatur yang lebih tinggi yang dapat memecahkan zat-zat pengabsorpsi molekular. 2) Penggunaan “background correction” yaitu suatu sumber continuum lampu deuterium arc dengan panjang gelombang UV, atau lampu Tungsten-Iodida dengan panjang gelombang visible (Haswell, 1991).

#### 2.2.4 Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Tujuan validasi metode analisis adalah untuk menunjukkan bahwa metode yang digunakan sesuai dengan yang dimaksudkan (ICH, 2005).

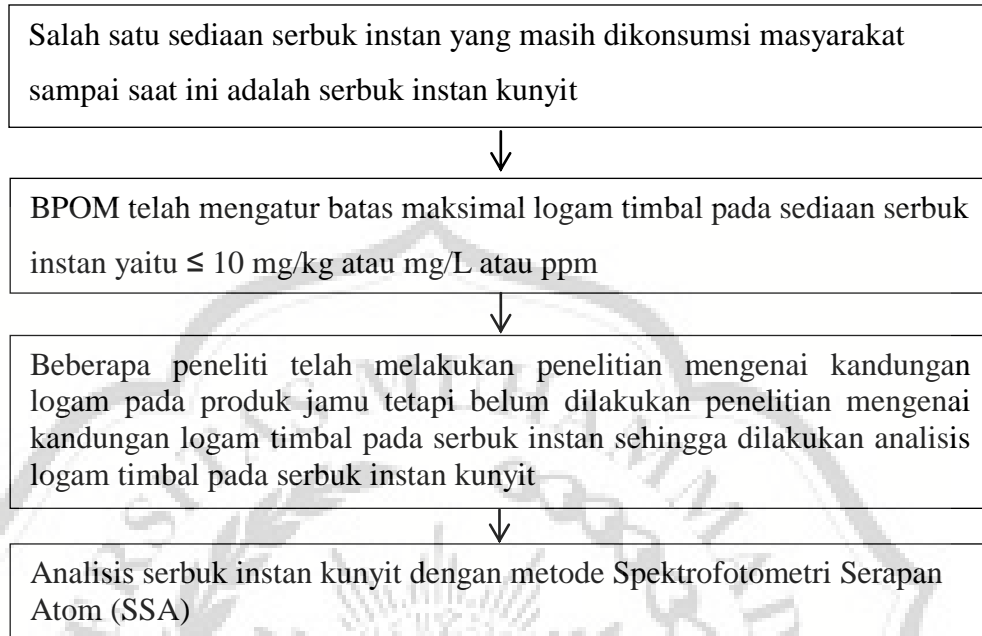
Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis :

- a. Linearitas, artinya metode analisis tersebut mampu memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas memenuhi syarat jika koefisien relasi mendekati 1.
- b. Spesifisitas, artinya metode tersebut mampu mendeteksi hanya satu senyawa analit dalam contoh yang diuji, meskipun matriks sampel sangat kompleks.
- c. Ketelitian (*precise*), artinya metode tersebut menghasilkan suatu hasil analisis yang sama atau hampir sama dalam satu seri pengukuran (penetapan). Metode analisis dinyatakan teliti jika nilai RSD < 2%.
- d. Kecermatan (*accurate*), artinya metode dapat menghasilkan nilai rata-rata (*mean*) yang sangat dekat dengan nilai sebenarnya (*true value*). Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan dengan rentang nilai 98-102%.

#### 2.2.5 LOD dan LOQ

LOQ (*Limit of Detection*) menggambarkan konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang masih dapat diukur. LOQ (*Limit of Quantification*) menggambarkan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dianalisis dengan presisi dan akurasi di bawah kondisi percobaan tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 2.3 Kerangka Konsep



**Gambar 2.3 Kerangka konsep penelitian**

### 2.4 Hipotesis

Analisis cemaran logam Pb dalam serbuk instan kunyit yang beredar di pasaran dapat dilakukan secara spektrofotometri serapan atom.