

VALIDASI METODE ANALISIS CEMARAN LOGAM BERAT: TIMBAL (Pb) DAN KADMIUM (Cd) DENGAN VARIASI OKSIDATOR SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM DALAM SEDIAAN OBAT HERBAL

(VALIDATION METHOD OF ANALYSIS HEAVY METAL: LEAD (Pb) AND CADMIUM (Cd) WITH OKSIDATOR VARIATIONS BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY IN HERBAL MEDICINE)

Srie Rezeki Nur Endah, Ali Nofriyaldi

Department of Pharmacy, Faculty of Health Science
Perjuangan University, Tasikmalaya, Indonesia
Email: srierezekine@gmail.com

Received: 1 Desember 2019; Revised: 30 Desember 2019; Accepted: Desember 2019; Available online: Desember 2019

ABSTRAK

Penggunaan obat herbal di Indonesia sudah berlangsung sejak ribuan tahun yang lalu, sebelum obat modern ditemukan dan dipasarkan. Obat tradisional Indonesia atau obat asli Indonesia yang lebih dikenal dengan nama jamu, umumnya campuran obat herbal, yaitu obat yang berasal dari tanaman. Sehubungan dengan sumber dan kualitas bahan baku obat herbal maka efektifitas dan keamanan merupakan peran penting dalam pengendalian kualitas formulasi obat herbal. Ekstrak atau sari kental yang berasal dari suatu bahan alam sebelum diolah menjadi produk herbal juga harus memenuhi syarat mutu yang berlaku, seperti cemaran timbal (Pb) dan kadmium (Cd). Kontaminasi logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dapat terjadi pada produk obat herbal. Metode analisis yang digunakan untuk penetapan kadar cemaran timbal dan kadmium harus divalidasi. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode analisis dan melakukan uji kadar cemaran logam berat timbal dan kadmium dalam sediaan obat herbal di Kota Tasikmalaya. Preparasi sampel menggunakan metode destruksi basah dengan menggunakan variasi oksidator $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2$ (3:1), $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (3:1) dan $\text{HNO}_3 : \text{HCl}$ (3:1). Setelah diperoleh alat dan proses destruksi optimum, dilakukan validasi metode analisis untuk penetapan kadar cemaran timbal dan kadmium dengan Spektrofotometri Serapan Atom yang meliputi uji linieritas, batas deteksi, batas kuantifikasi, presisi dan akurasi. Uji kadar cemaran timbal dan kadmium dalam sediaan obat herbal dianalisis dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SAA) pada panjang gelombang spesifik berturut-turut yaitu 217,0 nm dan 228,8 nm. Hasil penelitian validasi metode analisis memenuhi persyaratan validasi.

Kata Kunci : obat herbal ; validasi; timbal; kadmium; Spektrofotometri Serapan Atom

PENDAHULUAN

Dalam dekade belakangan ini di tengah banyaknya jenis obat modern di pasaran dan munculnya berbagai jenis obat modern yang baru, terdapat kecenderungan global untuk kembali ke alam (back to nature). Faktor yang mendorong masyarakat untuk mendayagunakan obat bahan alam atau obat herbal antara lain mahalnya harga obat modern/sintetis dan banyaknya efek samping. Selain itu faktor promosi melalui media masa juga ikut berperan dalam meningkatkan penggunaan obat herbal. Oleh karena itu obat herbal menjadi semakin populer dan penggunaannya meningkat tidak saja di negara sedang berkembang seperti Indonesia, tetapi juga pada negara maju misalnya Jerman dan Amerika Serikat. Jenis obat herbal yang digunakan dapat berupa obat tradisional buatan sendiri, jamu gendong maupun obat tradisional industri pabrik (Dewoto,2007). Sehubungan dengan sumber dan kualitas bahan baku obat herbal maka efektifitas dan keamanan merupakan peran penting dalam pengendalian kualitas formulasi obat herbal. World Healthy Organization (WHO) telah melakukan beberapa resolusi menggunakan beberapa teknik analisis untuk memastikan kualitas kontrol tanaman. Kontaminasi logam telah banyak ditemukan dalam obat herbal karena penyimpanan yang tidak

higienis, kondisi kemasan atau dari bahan bakunya. Kontaminasi logam yang tinggi ini dapat terjadi karena efek lingkungan yang rusak yaitu dari tanah, air dan udara. Untuk itu WHO meningkatkan upaya meniadakan kontaminasi logam berat dalam obat herbal agar jaminan kualitas tetap terjaga (Tamiselvi&Kannan, 2014). Logam berat dapat menimbulkan efek terhadap kesehatan bagi manusia tergantung pada bagian tubuh yang terikat logam. Logam berat yang bersifat racun di dalam tubuh akan membahayakan kesehatan bahkan menyebabkan kematian (Murniasih&Taftazani, 2013). Sesuai Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No 13 tahun 2014 batas cemaran logam berat dalam obat herbal adalah sebesar 0,3 mg/Kg untuk kadmium (Cd) dan 10 mg/Kg untuk timbal (Pb) (BPOM, 2014). Penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Zulharmita, et al., 2017 analisis cemaran logam berat (Pb dan Cd) dalam sediaan obat herbal di Rumah Sakit Islam Siti Rahmah Padang secara spektrofotometri serapan atom. Sampel terdiri dari 4 jenis obat herbal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keempat sampel tidak melebihi ambang batas cemaran logam berat yang ditetapkan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia No 13 tahun 2014. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode analisis dan uji kadar cemaran logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dengan variasi oksidator secara spektrofotometri serapan atom dalam sediaan obat herbal yang dijual di daerah Kota Tasikmalaya. Urgensi dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi untuk penetapan kadar logam berat timbal dan kadmium dalam sediaan obat herbal yang telah tervalidasi dengan cara destruksi basah yang menggunakan optimasi variasi oksidator dan pengujiannya diukur dengan Spektrofotometri Serapan Atom, mengingat semakin banyaknya jenis obat herbal yang sudah beredar di pasaran baik produksi dari industri besar ataupun industri rumah tangga.

METODE PENELITIAN

Alat

Atomic Absorption Spectrofotometry 55B SpectrAA Varian, lampu katoda berongga (untuk logam Pb dan Cd), labu detruksi, *heating mantle*, *vial cap* SPD 35 mL, pipet volum 1,0 mL, 2,0 mL, 5,0 mL, 10,0 mL, labu terukur 50,0 mL, labu terukur 100,0 mL, dan alat timbang analitik Mettler Toledo Dragon 204.

Bahan

Larutan baku induk Pb 1000 mg/L (Merck), Cd 1000 mg/L (Merck), asam nitrat 65% (Merck), hidrogen peroksida 30% (Merck), *aquabidest* dan sampel obat herbal yang didapatkan di daerah Kota Tasikmalaya.

Penyiapan Larutan Baku Kerja

Larutan baku 1000 ppm untuk logam Pb dan 1000 ppm untuk logam Cd diencerkan hingga diperoleh baku seri dengan konsentrasi baku seri dengan konsentrasi 1, 2, 5, 6, 8, ppm untuk Pb dan Cd.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan antara konsentrasi dengan serapan dari larutan baku logam Pb dan Cd. Konsentrasi baku yang digunakan adalah 1, 2, 5, 6, 8 ppm.

Validasi Metode

Validasi metode penetapan kadar logam berat timbal dan kadmium dengan destruksi basah meliputi linieritas, batas deteksi, batas kuantisasi, akurasi dan presisi.

Linieritas

Uji linieritas metode analisis dilakukan dengan menggunakan satu seri larutan baku logam Pb dan Cd dengan yang berbeda. Kurva kalibrasi diperoleh dengan memplot hubungan antara konsentrasi dengan serapan atau absorbansi yang terukur. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien kolerasi (r) dan koefisien variansi fungsi regresi pada analisis regresi linier $y = bx + a$. Berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh, dilakukan perhitungan dan uji statistik meliputi homogenitas variansi, linieritas, batas deteksi, dan batas kuantisasi.

Penentuan kelinieran dilakukan dengan memplot respon instrumen yang dinyatakan dengan serapan, dengan konsentrasi larutan baku logam Pb dan Cd yang terdiri dari 5 tingkat konsentrasi. Satu level konsentrasi baku disuntikan masing – masing sebanyak 3 kali. Kemudian diperoleh kurva kalibrasi dan ditentukan parameter korelasi (r) dan koefisien fungsi regresi.

Batas Deteksi Dan Batas Kuantisasi

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dilakukan dengan menggunakan data dari penentuan linieritas. Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi berdasarkan dihitung secara statistik dari kurva kalibrasi.

Akurasi

Parameter akurasi ditentukan dengan menghitung persen perolehan kembali melalui metode penambahan baku (*standard addition method*) untuk sampel obat herbal. Pada sampel sabun kosmetika, ditambahkan baku logam Pb dan Cd dengan konsentrasi yang diketahui dan dihitung persen perolehan kembali.

Presisi

Presisi diukur dengan mengulang pengukuran suatu konsentrasi senyawa baku Pb dan Cd dalam produk sebanyak 6 kali. Ditimbang saksama sejumlah lebih kurang ditimbang lebih kurang 1 gram sampel obat herbal, lalu dimasukkan ke dalam labu destruksi untuk dilakukan destruksi basah dengan menggunakan campuran asam nitrat 65% dan hidrogen peroksida 30%. Destruksi lakukan dengan asam nitrat 65% sebanyak 15 ml ditambahkan ke dalam labu destruksi dan sambil dipanaskan pada suhu lebih kurang 100°C. Proses ini dilakukan sampai hilangnya asap berwarna coklat. Setelah itu larutan ditambahkan dengan hidrogen peroksida 30% sebanyak 5 ml sedikit demi sedikit sambil dilakukan pemanasan pada suhu lebih kurang 100°C. Proses destruksi dihentikan sampai larutan jernih yang menandakan bahwa proses destruksi telah sempurna. Setelah proses destruksi selesai, larutan didiamkan sampai dingin, lalu larutan dimasukan ke labu ukur 50 ml dan tambahkan aquabides sampai tanda batas labu ukur, kemudian larutan dihomogenkan. Lalu disaring dengan menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam vial. Destruksi dampel dilakukan dua kali ulangan. Hasil pengukuran presisi dinyatakan sebagai simpangan baku relatif (SBR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Destruksi merupakan suatu cara perlakuan sampel untuk menguraikan zat – zat organik menjadi bentuk yang lebih sederhana dan melarutkan analit logam menjadi kation sehingga dapat dilakukan pengukuran. Metode destruksi dalam preparasi sampel sebelum diukur dengan AAS dapat dilakukan dengan cara yaitu metode destruksi kering (*dry ashing*) dan metode destruksi basah (*wet digestion*). Pada metode destruksi basah, penguraian sampel dilakukan menggunakan asam kuat baik tunggal maupun campuran.

Asam kuat yang dapat digunakan untuk mendestruksi sampel adalah asam nitrat (HNO₃), yang divariasikan dengan oksidator asam peroksida (H₂O₂) asam sulfat (H₂SO₄), dan asam klorida (HCl) dengan perbandingan 3:1. Kesempurnaan destruksi ditandai dengan diperolehnya larutan jernih setelah destruksi selesai, yang menunjukkan bahwa semua konsituen yang ada telah larut sempurna atau penguraian senyawa – senyawa organik telah berjalan dengan baik.

Setelah kondisi AAS dan destruksi sudah optimum, maka dilanjutkan untuk melakukan validasi metode meliputi linieritas, batas deteksi, batas kuantitas, akurasi dan presisi. Hasil optimasi validasi metode menunjukkan pereaksi terbaik yaitu dengan menggunakan asam kuat asam nitrat (HNO₃) dengan oksidator asam peroksida (H₂O₂). Penentuan kelinieran dilakukan dengan memplot respon instrumen yang dinyatakan dengan nilai serapan/absorbansi yang terukur, dengan konsentrasi larutan baku logam Pb dan Cd yang terdiri dari 5 tingkat konsentrasi. Setiap konsentrasi baku disuntikan masing – masing sebanyak 3 kali. Kemudian diperoleh kurva kalibrasi dan ditentukan parameter korelasi (r) dan koefisien fungsi regresi (Vx0).

Tabel 1. Parameter Regresi Linier Kurva Kalibrasi Logam Pb dan Cd

Parameter	Regresi Linier Pb	Regresi Linier Cd
Persamaan regresi	$y = 0,0125x + 0,0014$	$y = 0,1237x + 0,0247$
Kemiringan garis regresi/ slope (b)	0,0125	0,1237
Perpotongan dengan garis sumbu y (a)	0,0014	0,0247
X rata-rata (ppm)	0,0000007	0,0004521
Sy/x (simpangan baku residu)	0,0010075	0,0260404
(Sy/x)/b	0,0805978	0,2105122
V_{x_0} /koefisien variansi regresi (%)	2,1981209	5,7412405
r (koefisien korelasi)	0,9998	0,9982
LOD/ Batas Deteksi (ppm)	0,242	0,163
LOQ/ Batas Kuantisasi (ppm)	0,806	0,205

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa parameter regresi linier logam Pb pada rentang konsentrasi 1,0 – 8,0 ppm seluruhnya menunjukkan hasil yang baik dengan persamaan garis regresi $y = 0,0125x + 0,0014$ dan koefisien korelasi $r = 0,9998$. Batas deteksi (BD) dan batas kuantisasi (KB) dihitung secara statistik dari kurva kalibrasi yaitu 0,242 ppm dan 0,806 ppm.

Sedangkan parameter regresi linier logam Cd pada rentang konsentrasi 1 – 8 ppm seluruhnya menunjukkan hasil yang baik dengan persamaan garis regresi $y = 0,1237x + 0,0247$ dan koefisien korelasi $r = 0,9982$. Batas deteksi (BD) dan batas kuantisasi (BK) dihitung secara statistik dari kurva kalibrasi yaitu 0,163 ppm dan 0,205 ppm.

Tabel 2. Presisi Antar Hari Logam Pb Dalam Obat Herbal

Hari ke-	Konsentrasi ($\mu\text{g/g}$)
1	54,4
2	54,3
3	54,4
Rata – rata	54,4
SB	0,11
SBR(%)	0,20
KV Horwitz	24,64
0,67 KV Horwitz	16,43
HORRAT	0,01

Dari tabel diatas diperoleh SBR 0,20% memenuhi persyaratan $< 0,67$ KV Horwitz dan HORRAT $< 2\%$. Dengan demikian hasil untuk parameter presisi logam Pb memenuhi persyaratan baik antar hari dan intra hari.

Tabel 3. Presisi Antar Hari Logam Cd Obat Herbal

Hari ke-	Konsentrasi (ppm)
1	47,00
2	46,60
3	46,20
Rata – rata	46,60
SB	0,69
SBR (%)	0,22
KV Horwitz	19,01
0,67 KV Horwitz	12,67
HORRAT	0,02

Dari tabel diatas diperoleh SBR 0,22%, memenuhi persyaratan $< 0,67$ KV Horwitz dan HORRAT $< 2\%$. Dengan demikian hasil untuk parameter presisi memenuhi persyaratan baik antar hari dan intra hari.

Tabel 4. Akurasi Logam Pb Dalam Obat Herbal

No	Konsentrasi Analit Tanpa spike ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi analit dengan spike ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi analit perolehan ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi analit yang ditambahkan ($\mu\text{g/g}$)	Perolehan kembali (%)
1	127,5	180,5	53,0	50	106,0
2	127,5	182,4	54,9	50	109,8
3	127,5	181,5	54,0	50	108,0
4	127,5	230,4	102,9	100	102,9
5	127,5	225,6	98,1	100	98,1
6	127,5	238,4	110,9	100	110,9
7	127,5	380,4	252,9	250	101,2
8	127,5	377,5	250,0	250	100,0
9	127,5	375,8	248,3	250	99,3
Rata – rata perolehan kembali (%)					104,02

Tabel 5. Akurasi Logam Cd Dalam Obat Herbal

No	Konsentrasi Analit Tanpa spike ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi analit dengan spike ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi analit perolehan ($\mu\text{g/g}$)	Konsentrasi analit yang ditambahkan ($\mu\text{g/g}$)	Perolehan kembali (%)
1	10,20	61,96	51,76	50	103,52
2	10,20	60,95	50,75	50	101,50
3	10,20	60,35	50,15	50	100,30
4	10,20	125,16	101,99	100	101,99
5	10,20	124,96	105,49	100	105,49
6	10,20	114,11	114,76	100	114,76
7	10,20	275,65	265,45	250	106,18
8	10,20	277,90	267,70	250	107,08
9	10,20	265,08	254,88	250	101,95
Rata – rata perolehan kembali (%)					104,75

Akurasi logam Pb dan Cd dinyatakan dengan persen perolehan kembali yang dihitung dengan perhitungan recovery. Dari tabel di atas diperoleh kembali logam Pb dan Cd dalam sabun masing – masing antara 98,1 – 110,9 % dan 100,30 – 107,08 %. Hal ini memenuhi syarat keberterimaan untuk akurasi yaitu pada rentang 80 - 120 %.

KESIMPULAN

Metode penentuan Pb dan Cd dalam obat herbal menggunakan teknik analisis Spektrofotometer Serapan Atom dengan variasi oksidator telah berhasil didapatkan dan memenuhi persyaratan validasi metode analisis sesuai dengan persyaratan validasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Kemenristekdikti yang telah memberikan dana hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun 2019, Sekolah Farmasi ITB sebagai tempat Pengukuran logam berat menggunakan alat Spektrofotometri Serapan Atom serta staf laboratorium prodi Farmasi Universitas Perjuangan Tasikmalaya yang telah membantu selama penelitian sehingga penelitian ini berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

1. BPOM. (2014). Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No 13 tahun 2014 batas cemaran logam berat dalam obat herbal.
2. Dedi Hanwar, Devi Eka Nitoviani, Andi Suhendi. (2017). Validasi Penetapan Kadar Cemaran Timbal (Pb) Dan Kadmium (Cd) Dalam Ekstrak Metanol Dan Sediaan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) Dengan Spektrometri Serapan Atom. JKPK (JURNAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA), Vol. 2, No. 3, Desember 2017
3. Dewoto, Hedi R. (2007) Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*, Volum: 57, Nomor: 7, Juli 2007
4. Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No.3, Desember 2004, 117 - 135
5. Husna, dkk. (2015). Analisis Kandungan Logam Timbal, Kadmium Dan Merkuri Dalam Produk Jamu Pegal Linu Yang Beredar Di Kota Pekanbaru. *JOM FMIPA* Volume 2. No. 1 Februari 2015.
6. Kristianingrum, Susila. (2012). Kajian Berbagai Proses Destruksi Sampel Dan Efeknya. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 2 Juni 2012.
7. Murniasih, S & Taftazani, A. (2013). Evaluasi Hg, Cd, Co, Cr, dan As dalam Sampel Produk Agroindustri Berdasarkan Keputusan BPOM dan ADI (Accept Daily Intake). *Jurnal Iptek Nuklir Ganendra*, 16 (1), 2637.
8. Palar, H. (2004). *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
9. Sari, Lusia Oktora Ruma Kumala. (2006). Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat Dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No.1, April 2006, 01 – 07.
10. Supriyanto C., dkk. (2010). Validasi Metode Spektrometri Serapan Atom Pada Analisis Logam Berat Cr, Cu, Cd, Fe, Pb, Zn dan Ni Dalam Contoh Uji Air Laut. Yogyakarta : BATAN.
11. Tamiselvi, S., & Kannan , K, P. (2014). Atomic Absorption Spectroscopy for Quantitative Evaluaton of Heavy Metals And Trace Elements in Daruharidra : A Rapid and Comprehensive Restorantion Scheme Quality Assurance of Herbal Plants from Market Place. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 5 (4), 825-829.
12. Zainal Arifin. (2008). Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro Dalam Sistem Biologi Dan Metode Analisisnya. *Jurnal Litbang Pertanian*, 27(3), 2008.
13. Zulharmita, Meta Zulfaretna, Sestry Misfadhila. (2017). Analisis Cemaran Logam Berat Dalam Sediaan Obat Herbal Di Rumah Sakit Islam Siti Rahmah Padang Secara Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 9, No. 2, 2017