

PENETAPAN KADAR LOGAM Pb DAN Cd DALAM SEDIAAN SPIRULINA DENGAN METODE SPEKTROSKOPI SERAPAN ATOM (SSA)

Lamtana Eka Kartikasari*, Wahyu Utami²

^{1,2}Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia

*Email: lamtanakartikasari@gmail.com

ABSTRAK

Spirulina merupakan salah satu spesies cyanobacteria yang mulai dikembangkan dalam bidang komersial dan pengobatan karena mengandung banyak zat bergizi seperti beberapa mineral dan vitamin. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa spirulina mampu mengakumulasi logam-logam berat dari perairan yang tercemari logam berat seperti logam Pb dan Cd. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui ada tidaknya cemaran logam Pb dan Cd dalam sediaan spirulina menggunakan metode spektroskopi serapan atom (SSA). Metode tersebut terlebih dahulu divalidasi meliputi parameter sensitivitas, linieritas, rpitabilitas dan akurasi. Sampel spirulina diambil dari dua macam produk dari dua produsen. Spirulina didestruksi menggunakan kombinasi HNO₃ dan H₂O₂, kemudian selanjutnya cemaran logam dikuantifikasi dengan SSA pada λ 283,3 nm (logam Pb) dan λ 228,8 nm (logam Cd). Hasil validasi metode menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup peka, linier, dan teliti untuk kuantifikasi logam Pb dan Cd dalam spirulina. Hasil pengukuran dengan metode tersebut menunjukkan adanya cemaran logam Pb dan Cd dalam kedua produk spirulina dengan kadar rata-rata logam Pb $2,642 \pm 0,559$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan $4,253 \pm 1,922$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan untuk logam Cd $0,569 \pm 0,357$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan $0,163 \pm 0,062$ $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Kata Kunci: Cd; Pb; Spektroskopi Serapan Atom; Spirulina

DETERMINATION THE LEVELS OF Pb AND Cd IN SPIRULINA USING ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY (AAS)

ABSTRACT

Spirulina which is a species of cyanobacteria contains a lot of nutritive substances such as some minerals and vitamins and has been wide used as commercial products. The previous study stated that spirulina is able to accumulate heavy metals from waters contaminated with heavy metals such as Pb and Cd. The purpose of this study was to determine the levels of Pb and Cd contamination in spirulina using atomic absorption spectroscopy (AAS) method. Spirulina was destructed using a combination of HNO₃ and H₂O₂ and was quantified using the method which had been validated by parameters linearity, sensitivity, rpitability and accuracy. The heavy metals was detected at 283.3 nm (Pb) and 228.8 nm (Cd). The method has been has been shown to have sufficient sensitivity, selectivity, linearity and precision. This study found that spirulina products from two difference sources were contains metal contamination which were 2.642 ± 0.559 and 4.253 ± 1.922 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively for Pb; and 0.569 ± 0.357 and 0.163 ± 0.062 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for Cd.

Keywords: Atomic Absorption Spectroscopy; Cd; Pb; Spirulina

Penulis korespondensi:

Lamtana Eka Kartikasari
Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura
Email: lamtanakartikasari@gmail.com

PENDAHULUAN

Penelitian bahan alam dan laut untuk komersial dan pengobatan telah berkembang pesat, karena spirulina mengandung banyak zat bergizi seperti vitamin, mineral, asam lemak esensial dan pigmen antioksidan seperti carotinoids [1]. *Spirulina platensis* merupakan *cyanobacterium* pertama yang dikultivasi secara komersial dengan bioteknologi modern dan telah digunakan sebagai alternatif sumber makanan yang murah dalam bentuk tablet, pil, serbuk, suplemen vitamin dan sumber protein, suplemen makanan untuk manusia dan untuk nutrisi hewan ternak [2], spirulina juga mengandung β -karoten yang dapat menurunkan resiko terjadinya kanker [3]. Spirulina dalam ekosistem perairan dapat mengakumulasi logam secara efektif [4] dan logam berat dalam ekosistem perairan berasal dari limbah proses industrialisasi [5]. Logam berat dapat masuk dalam sel *cyanobacteria* melalui mekanisme aktif (biosorption) maupun pasif (bioakumulasi) [6] ketika terakumulasi dalam organ maupun jaringan makhluk hidup dapat menimbulkan toksisitas. Konsumsi Pb dalam jumlah banyak secara langsung menyebabkan kerusakan jaringan, termasuk kerusakan jaringan mucosal [7]. Selain itu limbah industri yang mengandung logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) juga berbahaya untuk ekosistem perairan [5].

Cemaran logam berat seperti arsen, merkuri, timbal dan kadmium dalam bahan alam dan laut harus ditentukan kadarnya (*mandatory test*) untuk mengetahui tingkat keamanan konsumsi dan sebagai kontrol kualitas [8]. Penetapan kadar cemaran logam berat dalam produk sediaan (kapsul dan tablet) dan serbuk kering spirulina telah dilakukan sebelumnya di Arab Saudi, hasil analisis cemaran logam yang terkandung dalam serbuk kering spirulina tersebut sangat rendah [2].

Menurut [4] hasil analisis kadar cemaran logam berat (Ni, Zn, Hg, Pt, Mg dan Mn) dalam produk sediaan spirulina di Arab Saudi juga di bawah batas normal sehingga aman dan layak untuk dikonsumsi. Menurut [7] batas maksimum cemaran logam berat dalam produk pangan di Indonesia adalah 0,2 mg/kg untuk

logam kadmium dan 0,25 mg/kg untuk logam timbal. Penetapan kadar cemaran logam berat dalam makanan dapat ditetapkan dengan metode *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS), *Atomic Emission Spectroscopy* (AES), *Inductively coupled plasma spectrometry* (ICP-S), *Inductively coupled plasma mass spectrometry* (ICP-MS), dan Spektrofluometri [9].

Oleh karena itu akan dilakukan penelitian penetapan kadar cemaran logam Pb dan Cd dalam produk spirulina dengan metode spektroskopi serapan atom (SSA) karena metode ini sensitif dan spesifik untuk penetapan kadar logam dalam jumlah sekelumit (*trace element*).

METODE

Alat: Seperangkat Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) model SHIMADZU tipe AA 7000, alat gelas (*pyrex*), mikropipet (*Socorex*), neraca analitik digital, hot plate (*Iwaki*), kertas saring (*Whatman no. 42*). **Bahan:** Sampel sediaan spirulina dari industri X dan industri Y dengan betas yang berbeda, aqua demineralisata (*Brataco*), HNO_3 65% pa (*Merck*), H_2O_2 30% pa (*Merck*), larutan baku Pb 1000 ppm (*Merck*) dan larutan baku Cd 1000 ppm (*Merck*).

Destruksi sampel: Ditimbang satu gram sampel spirulina dan dimasukkan dalam erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dalam 10 mL HNO_3 65% pa kemudian dipanaskan di atas hot plate dengan suhu 120°C sampai terbentuk larutan jernih, kemudian didinginkan selama 5 menit ditambahkan H_2O_2 30% pa 5 mL secara hati-hati jangan sampai berbuih (melalui dinding erlenmeyer), semua dikerjakan di lemari asam. Dipanaskan kembali sampai terbentuk larutan jernih, setelah dingin kemudian disaring endapan dengan kertas saring *whatman no. 42* dan larutan dipindahkan dalam labu takar dan ditambahkan aqua demineralisata sampai 100 mL. Dibaca kadar cemaran logam Pb dan Cd dalam sediaan spirulina dengan SSA. Pengukuran dilakukan dengan λ 228,8 nm untuk logam Cd dan λ 283,3 nm untuk logam Pb [10].

Dibuat larutan stok masing-masing logam Pb dan Cd 10 ppm dari larutan standard 1000 ppm. Seri konsentrasi kurva baku logam Pb (1,00-0,01 ppm), sedangkan logam Cd (0,1-0,001 ppm). Parameter sensitivitas dan linearitas diperoleh

dari persamaan regresi linear kurva baku. Parameter akurasi yaitu perlakuan sesuai Tabel 1.

Tabel 1. Penambahan zat aktif untuk akurasi

Zat Aktif	Ketentuan	Penambahan zat aktif		
		K _r	K _s	K _t
Logam Pb	Pengambilan	1 mL	5 mL	10 mL
	Kons. larutan standar	10 ppm	10 ppm	10 ppm
	Σ logam	10 µg	50 µg	100 µg
Logam Cd	Pengambilan	0,1 mL	0,5 mL	1 mL
	Kons. larutan standar	10 ppm	10 ppm	10 ppm
	Σ logam	1 µg	5 µg	10 µg

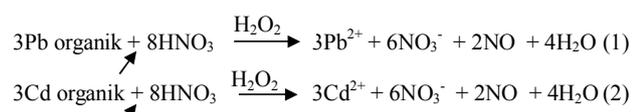
K_r: Konsentrasi rendah; K_s: Konsentrasi sedang; K_t: Konsentrasi tinggi

Sumber : data yang diolah (2017)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kuantitatif dengan SSA

Analisis cemaran logam dilakukan pada sampel spirulina yang telah didestruksi. Proses destruksi menentukan terbacanya kadar cemaran logam Pb dan Cd dengan SSA. Tujuan destruksi yaitu untuk mengekstraksi cemaran logam dalam sampel. Metode destruksi dapat dilakukan dengan *wet digestion* (digesti basah) dan *dry ashing* (destruksi kering) [11]. Penelitian ini menggunakan metode destruksi basah karena memiliki kelebihan yaitu dapat mengekstraksi unsur logam dalam konsentrasi rendah pada sampel yang akan dianalisis. Destruksi basah yang dilakukan menggunakan kombinasi HNO₃-H₂O₂, logam dapat larut dalam HNO₃ dan berfungsi sebagai zat pengoksidasi (Gambar 1), sedangkan asam peroksida berperan sebagai katalis dengan mempercepat reaksi.



Gambar 1. Reaksi destruksi sampel

Larutan hasil destruksi harus jernih sehingga dapat dianalisis kadar cemaran logamnya dengan SSA. Adanya partikel dalam larutan dapat mengganggu pembacaan absorbansi sampel, untuk itu hasil destruksi perlu dilakukan

penyaringan sampai didapatkan larutan jernih.

Validasi Metode

Validasi metode merupakan tahap penting untuk menjamin mutu dalam analisis kuantitatif, sehingga metode analisis yang digunakan bersifat akurat, reproduisibel, spesifik serta sesuai dengan kisaran analit yang akan dianalisis. Validitas suatu metode dapat diketahui dari beberapa parameter yaitu linearitas, sensitivitas (nilai LOD, LOQ, dan *slope*), dan selektivitas yang bisa dilihat dari persamaan kurva baku serta parameter akurasi dan riptabilitas.

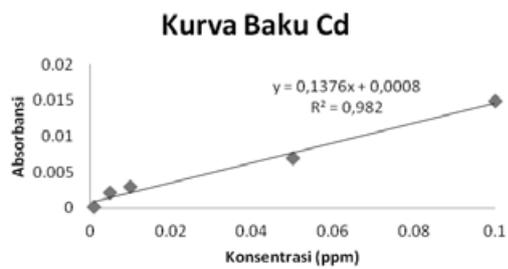
Parameter linearitas yaitu untuk mengetahui respon metode terhadap perubahan konsentrasi analit. Hasil linearitas untuk logam Pb dan Cd diperoleh dari data kurva baku dan nilai R² untuk parameter linearitas masing-masing yaitu logam Pb 0,9983 dan logam Cd 0,982, sedangkan koefisien korelasi (r) logam Pb 0,9991 dan logam Cd 0,9909. Kurva baku yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 2 yang menunjukkan bahwa sudah linear (r > 0,98).

Nilai *slope* dari persamaan regresi linear dapat menunjukkan sensitivitas metode terhadap konsentrasi analit. Nilai *slope* dari kurva baku Pb adalah 0,0162, sedangkan Cd yaitu 0,1376. Logam Cd memiliki nilai *slope* yang lebih besar daripada logam Pb. Hal ini menunjukkan dengan adanya perubahan konsentrasi yang sama metode ini memberikan respon yang lebih besar terhadap logam Cd daripada logam Pb, sehingga dapat disimpulkan metode ini lebih sensitif untuk menganalisis logam Cd dibandingkan Pb. Hal ini juga didukung dari hasil perhitungan nilai LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*) dimana nilai LOD dan LOQ logam Cd lebih kecil dibandingkan logam Pb (Tabel 2).

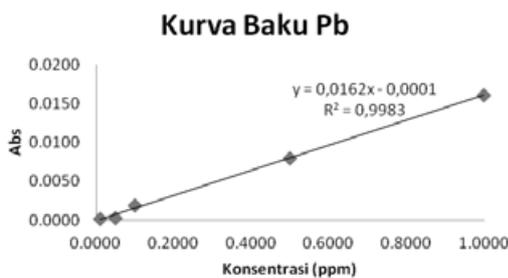
Tabel 2. Persamaan Kurva Baku Logam Pb dan Cd dan Nilai LOD dan LOQ

	Logam Pb	Logam Cd
Kurva Baku	Y = 0,0162x - 0,0001	Y = 0,1376x + 0,0008
R	0,9991	0,9909
R ²	0,9983	0,9820
LOD (µg/mL)	0,067	0,022
LOQ (µg/mL)	0,203	0,066

Sumber : data hasil analisis dengan SSA (2017)



(a)



(b)

Gambar 2. Grafik Kurva baku Logam Pb (a) dan logam Cd (b)

Parameter validasi metode selanjutnya yaitu akurasi. Metode akurasi yang digunakan adalah penambahan larutan standar (*standard addition*) dengan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi rendah, konsentrasi sedang dan konsentrasi tinggi. Hasil *recovery* dan nilai RSD untuk logam Pb dan Cd dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil parameter akurasi logam Pb dan Cd

Sampel	Kadar (ppm)	Recovery (%)	RSD (%)	Rata-rata recovery (%)	Rata-rata RSD (%)
Logam Pb	0,1	140,15	2,54	95,89	2,43
	0,5	66,58	1,28		
	1,0	80,96	3,46		
Logam Cd	0,01	139,70	3,61	188,87	3,59
	0,05	207,37	5,67		
	0,1	219,56	1,50		

Sumber : data yang diolah hasil analisis dengan SSA (2017)

Hasil parameter akurasi menunjukkan nilai *recovery* masing-masing logam Pb dan Cd yaitu 95,89% dan 188,87%. Nilai *recovery* untuk logam Cd sangat besar kemungkinan disebabkan karena gangguan spektra dan non spektra. Gangguan spektra seperti absorpsi sumber radiasi dan *background absorption* dari

sumber radiasi [12], sedangkan gangguan non spektra berasal dari kemungkinan keberadaan logam lain dalam sampel spirulina yang dapat menginterferensi pembacaan absorbansi logam Cd, sehingga absorbansinya menjadi lebih besar. Gangguan yang disebabkan karena logam lain tersebut dapat dikurangi dengan penambahan agen pengkompleks dalam proses preparasi sampel.

Ripitabilitas atau keterulangan merupakan salah satu parameter untuk menentukan validitas suatu metode. Parameter ini digunakan untuk mengetahui adanya ketelitian metode. Nilai parameter ripitabilitas yaitu %RSD untuk logam Pb 4,77%, sedangkan logam Cd 10,24%.

Penetapan Kadar Logam Pb dan Cd dalam Sampel

Spirulina merupakan *cyanobacteria* atau *algae* yang dapat dibudidayakan dalam media air payau maupun air laut. Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya seperti temperatur, pH, media air atau lingkungan. Menurut [13] pH merupakan faktor kritis yang mempengaruhi adsorpsi logam dimana pada umumnya pH optimum sorpsi logam pH 4-6. Hasil penelitian [14] menyebutkan bahwa spirulina dapat mengakumulasi logam secara efektif. Adanya cemaran logam konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan, sedangkan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kematian spirulina.

Kadar cemaran rata-rata dalam spirulina untuk industri X dan Y untuk logam Pb 2,642±0,559 dan 4,253±1,922 ppm, sedangkan kadar cemaran logam Cd 0,569±0,357 dan 0,163±0,062 ppm. Hasil penetapan kadar cemaran logam dalam sediaan spirulina penting untuk mengetahui keamanan konsumsi dan kontrol kualitas suatu produk tersebut layak untuk beredar dipasaran. Hasil penetapan kadar logam Pb dan Cd dalam sampel spirulina dari dua industri berbeda ini menunjukkan bahwa kadar cemaran logam Pb dan Cd dalam sediaan spirulina (Tabel 4) melebihi batas maksimum cemaran logam yang dipersyaratkan [7] yaitu logam Pb < 0,25 ppm dan Cd < 0,2 ppm.

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar cemaran logam Pb dan Cd

	Sam- pel	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Rata-rata±SD	
				Logam Pb	Logam Cd
Industri X	A	3,037	0,822	2,642±0,559	0,569±0,357
	B	2,247	0,317		
Industri Y	C	2,894	0,207	4,253±1,922	0,163±0,062
	D	5,612	0,119		

Sumber : data yang diolah hasil analisis sampel dengan SSA (2017)

N = 4

ppm = µg/mL

Sampel spirulina yang dibudidayakan di air laut (industri X) dan air tawar (industri Y) tersebut kadar cemarnya tidak berbeda signifikan. Hal ini dapat dipengaruhi pencemaran air yang digunakan untuk membudidayakan serta faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya sehingga efektif dalam mengadsorpsi dan mengakumulasi logam berat dalam ekosistem perairan.

Mekanisme akumulasi logam dalam spirulina melalui 2 tahapan, yaitu tahap awal (laju cepat) dan tahap akhir (laju lambat). Tahap awal merupakan suatu tahap ion logam diadsorpsi dalam permukaan oleh mikroorganisme, sedangkan tahap kedua yaitu ion tersebut ditransportasi melalui dinding sel menuju sitoplasma.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode SSA ini metode cukup sensitif, teliti dan selektif untuk menentukan kadar cemaran logam dalam spirulina.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Semua sampel spirulina terdapat cemaran logam Pb dan Cd. Kadar cemaran logam Pb dan Cd dalam sampel spirulina tersebut melebihi batas maksimum yang diperbolehkan BPOM RI.

Saran

Perlu dilakukan pengujian terhadap spirulina segar sebagai agen bioremediasi yang efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Karadeniz and M. Cemek, "Protective Effect of Spirulina platensis Against Lead Toxication in Rats," *J. Anim. Vet. Adv.*, vol. 5, no. 12, pp. 1113-1116, 2006.
- [2] A. A. Al-Homaidan, "Heavy Metal Levels in Saudi Arabian Spirulina," *J. Biol. Sci.*, vol. 9, no. 14, pp. 2693-2695, 2006.
- [3] M. A. Habib, M. Parvin, and M. R. Hasan, *A Review on Culture , Production and Use of Spirulina as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish*. 2008.
- [4] N. A. Al-Dhabi, "Heavy metal analysis in commercial Spirulina products for human consumption," *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 20, no. 4, pp. 383-388, 2013.
- [5] A. Sari and M. Tuzen, "Kinetic and equilibrium studies of biosorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution by macrofungus (*Amanita rubescens*) biomass," *J. Hazard. Mater.*, vol. 164, no. 2-3, pp. 1004-1011, 2009.
- [6] J. A. Arnot and A. Gobas, "Review Of Bioconcentration Factor (BCF) and Bioaccumulation Factor Assesment for organic chemicals in Aquatic Organism," *Environ. Rev.*, vol. 14, no. 4, pp. 257-297, 2006.
- [7] BPOM RI, *Batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan*. 2009.
- [8] T. Lakshmi, R. Rajendran, and D. Ezhilarasan, "Atomic Absorption Spectrophotometric Analysis of Heavy Metals in Acacia catechu willd. vol. 7(4) pp. 777-781, 2015.
- [9] C. Reilly, "Metal Contamination of Food Its Significance for Food Quality and Human Health," *Blackwell Sci.*, pp. 28-32, 2003.
- [10] J. Sanders, "Monitoring Heavy Metals by Atomic Absorption Spectroscopy for Compliance with RoHS and WEEE Directives," *Semicond. Anal. Environ. Introd.*, vol. 1, no. 40, pp. 1-6, 2012.
- [11] L. M. L. Nollet, *Food Analysis Handbook of United State of America*: Marcel Dekker, 2004.
- [12] S. Suzanne Nielsen, *Food Analysis*, Fourth. United State of America: Springer, 2009.
- [13] S. Livia *et al.*, "Adsorption of Ni²⁺, Zn²⁺ and Pb²⁺ onto dry biomass of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* and *Chlorella vulgaris*

. I. Single metal systems," *Chem. Eng. J.*, vol. 173 (2), pp. 326-333, 2011.
[14] N. Rangsayatorn, E. Upatham, P. Kruatrachue, M Pokethitiyook, and G.Lanza,

"Phytoremediation potential of Spirulina (*Arthrospira*) platensis : biosorption and toxicity studies of cadmium," *Environmental Pollut.*, vol. 119, pp. 45-53, 2002.