



Identifikasi Kandungan Asam Benzoat Pada Obat Tradisional Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Wulan Destrilianti^{1*}, Ade Oktasari¹, Christina Rita Darhani²

¹Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, Indonesia

²Balai Besar Pengawas Obat Makanan Palembang, Indonesia

*e-mail korespondensi: wulandestrilianti23@gmail.com

Abstract. *Benzoic acid is a synthetic preservative used to inhibit spoilage or acidification by microorganisms, but as a medicinal chemical the use of benzoic acid in traditional medicine is certainly very limited. Besides being a BKO, benzoic acid also has a bad impact if consumed beyond the specified limit. Starting from Headaches, Nausea, Swelling Cells to damage to liver function. Given these adverse effects, it is necessary to identify the content of benzoic acid in a traditional medicine to find out whether the traditional medicine meets the requirements to be circulated in the community. The identification was carried out by testing using a High Performance Liquid Chromatography instrument, due to its sensitivity to benzoic acid. After the identification was carried out, it was found that 2 samples of traditional medicine showed negative results, while 1 sample showed positive results with a wavelength of 228 nm with a concentration of 1858.30 mg/kg. So the conclusion obtained based on these results is that samples of traditional medicines meet the requirements to be circulated in the community, as regulated in PERBPOM No. 17 of 2019 the requirements for benzoic acid levels are <2000 mg/kg.*

Keyword: *Benzoic Acid; Traditional Medicine; HPLC*

Abstrak. Asam Benzoat merupakan bahan pengawet sintesis yang digunakan untuk menghambat pembusukan ataupun pengasaman oleh mikroorganisme, namun sebagai Bahan Kimia Obat penggunaan asam benzoat pada obat tradisional tentu sangat dibatasi. Selain merupakan BKO asam benzoat juga memiliki dampak yang buruk apabila dikonsumsi melebihi batas yang telah ditentukan. Mulai dari Sakit Kepala, Mual, Pembengkakan Sel hingga kerusakan fungsi hati. Dengan adanya dampak buruk tersebut diperlukan adanya identifikasi mengenai kandungan asam benzoat pada suatu obat tradisional untuk mengetahui apakah obat tradisional tersebut memenuhi syarat untuk dapat beredar di masyarakat. Adapun identifikasi yang dilakukan dengan pengujian menggunakan instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, dikarenakan sensitivitasnya terhadap Asam benzoat. Setelah identifikasi dilakukan didapatkan hasil bahwa 2 sampel obat tradisional menunjukkan hasil negatif, sedangkan 1 sampel menunjukkan hasil positif dengan Panjang gelombang 228 nm dengan kadar sebesar 1858.30 mg/kg. Maka kesimpulan yang didapat berdasarkan hasil tersebut bahwa sampel obat tradisional



memenuhi syarat untuk dapat beredar di masyarakat, seperti diatur dalam PERBPOM No.17 Tahun 2019 syarat kadar asam benzoat <2000 mg/kg.

Kata kunci: Asam benzoat; Obat Tradisional; KCKT

PENDAHULUAN

Obat Tradisional yang lebih dikenal sebagai jamu oleh masyarakat Indonesia telah ada sejak lama, sebab masyarakat percaya bahwa kandungan di dalam tanaman memiliki berbagai khasiat baik akar, batang, daun, hingga bunga mampu menyembuhkan berbagai penyakit mulai dari sakit gigi, sakit tenggorokan, demam, bahkan hingga penyakit berat seperti diabetes dan hipertensi [1]. Oleh karena khasiatnya yang luar biasa tersebut tanaman yang jumlahnya banyak di Indonesia justru dimanfaatkan sebagai obat/herbal. Apabila masyarakat dahulu masih membuat jamu dengan cara manual, kini banyak perusahaan yang memproduksi sendiri obat tradisional tersebut. Selanjutnya berdasarkan riset, pemberian dosis perlu adanya kajian mendalam sebab apabila dosis yang tidak sesuai dengan senyawa yang terkandung akan menyebabkan perubahan efek pada masing-masing individu [2]. Obat Tradisional yang baik ialah obat tradisional yang tidak mengandung BKO (Bahan Kimia Obat), sekalipun terdapat BKO di dalamnya terdapat parameter yang ditetapkan untuk kadar penggunaan BKO pada Obat tradisional. Oleh sebab itu diperlukan adanya analisa mengenai kandungan BKO pada suatu Obat Tradisional.

Adapun BKO yang akan dibahas pada artikel yaitu asam benzoat yang merupakan salah satu jenis pengawet sintesis. Asam benzoat sendiri sesungguhnya memiliki fungsi untuk menghambat pembusukan ataupun pengasaman oleh suatu mikroorganisme seperti jamur maupun bakteri [3]. Selain fungsinya tersebut asam benzoat juga memiliki efek samping yang kurang baik bagi tubuh apabila dikonsumsi melebihi batas yang ditentukan ditambah penggunaan dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan bahaya seperti Sakit Kepala, Mual, Pembengkakan Sel hingga kerusakan fungsi hati [4]. Minimal konsumsi asam benzoat yang diperbolehkan terdapat pada PERBPOM No.17 Tahun 2019 yaitu <2000 mg/kg [5] apabila terindikasi telah melawati batas namun obat tetap beredar di masyarakat tentu dampaknya akan menjadi berbahaya bagi masyarakat.

Metode Analisis yang digunakan pada Identifikasi asam benzoat ini yaitu menggunakan instrument kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)/High Performance Liquid Chromatography (HPLC). KCKT merupakan instrument yang digunakan untuk identifikasi suatu komponen senyawa berdasarkan kepolarannya melalui proses pemisahan. Dengan sensitivitas yang tinggi maka KCKT dipilih sebagai instrument yang digunakan untuk identifikasi asam benzoat ini. Selain itu volume sampel yang digunakan relative kecil, presisi, cepat, dan akurat menjadi kelebihan sendiri dari penggunaan KCKT pada suatu analisis [6], [7]. Selain kelebihan dari KCKT tersebut terdapat pula beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam mengoperasikan KCKT untuk meminimalisir terjadinya error pada saat identifikasi sampel diantaranya kolom yang merupakan fase diam, detector dan tekanan pompa untuk menginjeksi sampel. Pemilihan ini harus sesuai sehingga peak area dapat terbaca dan senyawa dapat teridentifikasi. Hal lain yang kemungkinan dapat mengganggu proses yaitu kontaminasi logam maka perlu di cek ulang apakah instrument benar siap digunakan [8].

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada analisis adalah seperangkat peralatan kromatografi cair kinerja tinggi, kolom C18 (250 x 4.6 mm; ukuran partikel 5 μm), timbangan analitik, sudip, tabung sentrifuse, sentifuge, sonic, botol vial, gelas beaker 1000 ml, pipet ukur 1~10 ml, pipet mikro, labu ukur 25 ml, labu ukur 5ml, pH meter, botol reagen 2000 ml, gelas ukur, vial *HPLC*.

Bahan yang digunakan pada analisis adalah sampel obat tradisional, sep-pak vac 3cc (500 mg), penyaring membran hidrofilik 0.45 μm , baku asam benzoat, Asam Fosfat encer pH 3.74, asetonitril (Merck), methanol, air bebas mineral/aquadem.

Identifikasi Asam Benzoat pada Obat Tradisional

1. Identifikasi Sampel Padat

Pada preparasi sampel padat sampel sebanyak 500 mg dimogenkan dengan 10 ml metanol di dalam tabung sentrifuse. Disonikasi sampel selama 15 menit. Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat kemudian disaring dengan penyaring membran dan dipindahkan ke botol vial. Dipipet filtrat sebanyak 200 μl dan ditambahkan larutan metanol sebanyak 1800 μl ke dalam vial. Setelah preparasi sampel selesai dilakukan ekstraksi secara SPE dengan dikondisikan cartridge 1 ml metanol dan air dibiarkan menetes (cartridge tidak boleh sampai kering). Sebanyak 500 μm larutan sampel dan spiked sampel dimasukkan ke dalam masing-masing cartridge secara terpisah lalu dibiarkan menetes perlahan. Cartridge kemudian dicuci dengan 1 ml air dan elusi sebanyak 1 ml ditampung hasil elusi dalam vial. Selanjutnya dibuat seri larutan baku dengan cara sebanyak 5 mg baku sampel asam benzoat ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, kemudian dilarutkan dan diencerkan dengan metanol. Dibuat dengan konsentrasi 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Setelah dilakukan preparasi sampel dan larutan seri baku asam benzoat, dilakukukan preparasi spiked sampel dengan prosedur yang sama seperti preparasi sampel namun dengan penambahan 3 mg baku asam benzoat. Selanjutnya sampel, spiked sampel dan baku diinjeksi 20 μl dan diidentifikasi menggunakan Kromatografi cair kinerja tinggi dengan fase gerak Asetonitril dan Asam fosfat encer pH 3.74 [9].

2. Identifikasi Sampel Cair

Pada Preparasi sampel cair, sebanyak 10 ml sampel dipipet ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan menggunakan 10 ml metanol dan disonikasi selama 15 menit. Pelarut ditambahkan sampai tanda dan dikocok hingga homogen. Larutan kemudian dipipet 1 ml dan dimasukkan ke labu ukur 5 ml kemudian ditambahkan metanol sampai tanda batas. Larutan kemudian disaring dengan penyaring membrane dan dimasukkan ke dalam vial. Selanjutnya dilakukan ekstraksi secara SPE dengan dikondisikan kolom cartridge 1.5 metanol dan air, dibiarkan menetes (cartridge tidak boleh kering). Kemudian sebanyak 500 μm larutan uji dimasukkan ke cartridge dan dibiarkan menetes. Cartridge dicuci dengan 1 ml air dan elusi 1 ml ditampung hasil elusi dalam vial. Setelah preparasi sampel selesai dibuat larutan baku asam benzoat dengan cara sebanyak 5 mg baku asam benzoat ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan dan diencerkan dengan methanol sampai tanda. Kemudian diencerkan

sehingga konsentra baku standar 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Selanjutnya sampel diinjeksi 20 μ l dan diidentifikasi oleh Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan Fase gerak asetonitril dan Asam fosfat encer pH 3.74 [10].

HASIL DAN PEMBAHASAN

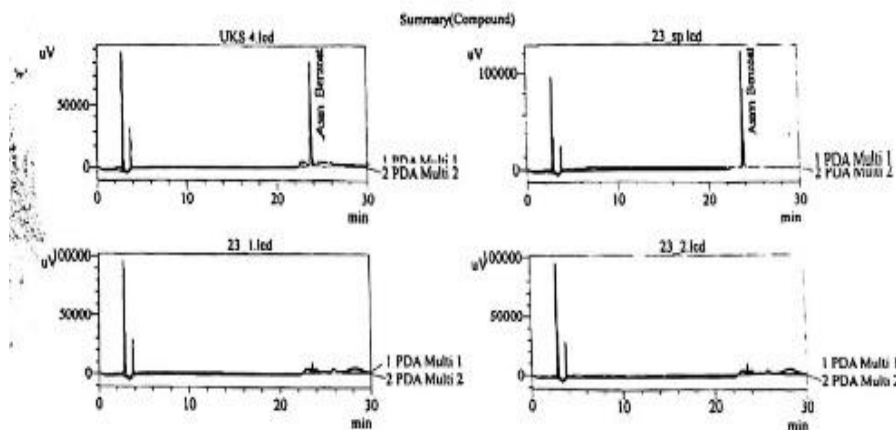
Berdasarkan Analisa terhadap 3 sampel obat tradisional yang telah dilakukan didapatkan hasil.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Senyawa Asam Benzoat pada Sampel Obat Tradisional

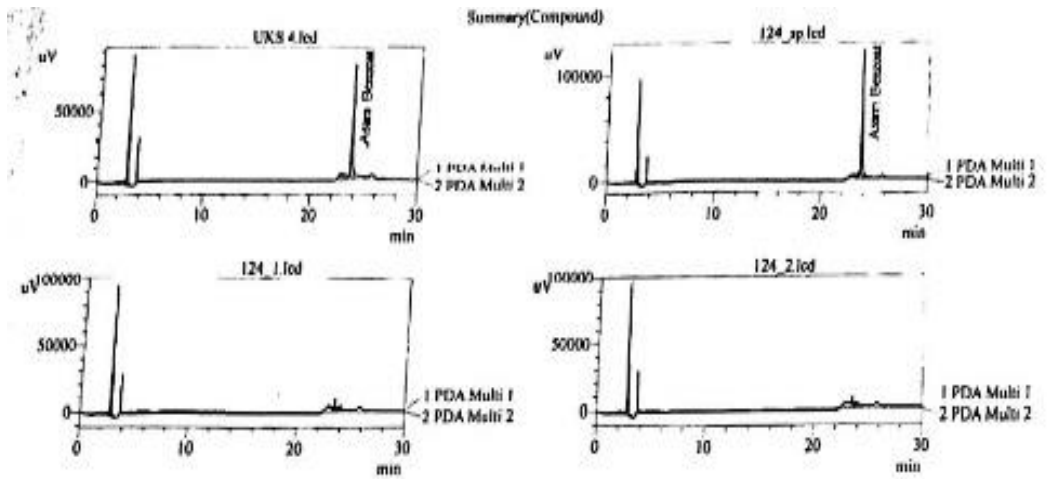
No	Sampel	Hasil Identifikasi
1	1.1	Negatif (-)
2	1.2	Negatif (-)
3	2.1	Negatif (-)
4	2.2	Negatif (-)
5	3.1	Positif (+)
6	3.2	Positif (+)

Identifikasi pada tiap sampel dilakukan duplo sehingga terdapat 2 hasil dengan sampel yang sama dengan tujuan meminimalisir terjadinya kesalahan pada identifikasi senyawa dalam sampel. Tiap 1 sampel didapatkan hasil yang sama, yaitu sampel 1 negatif mengandung asam benzoat, begitu pula sampel 2 negatif mengandung benzoat sedangkan sampel 3 menunjukkan hasil positif. Hal ini dapat terlihat dari munculnya puncak kromatogram yang sama pada sampel 3 dengan baku asam benzoat.

Peak sampel 1 dan 2 negatif mengandung asam benzoat sebab pada kromatogram tidak menunjukkan puncak yang sama dengan baku asam benzoat maupun spiked sampel



(a)

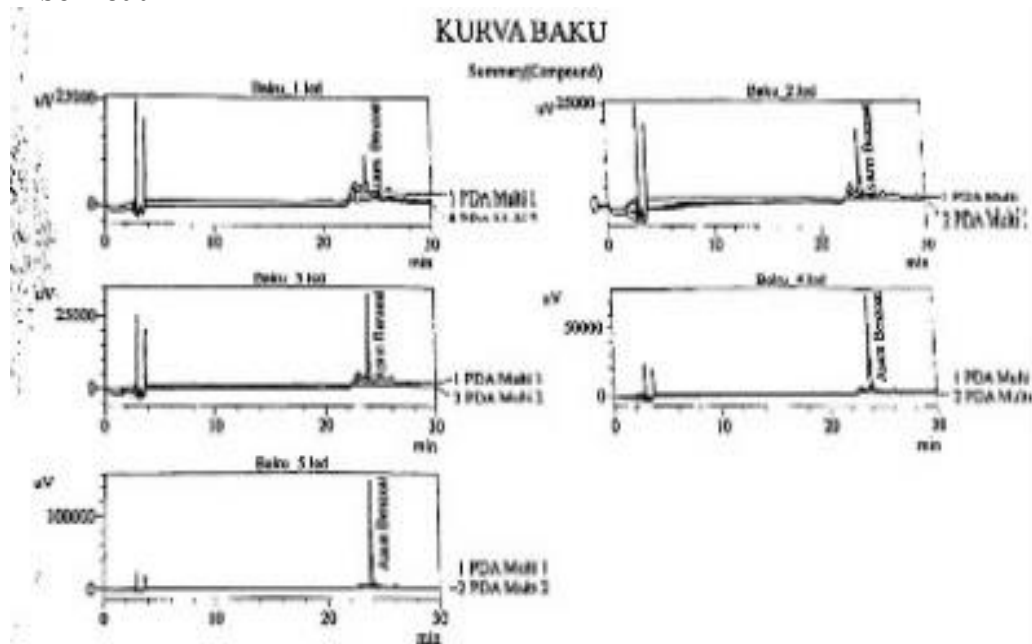


(b)

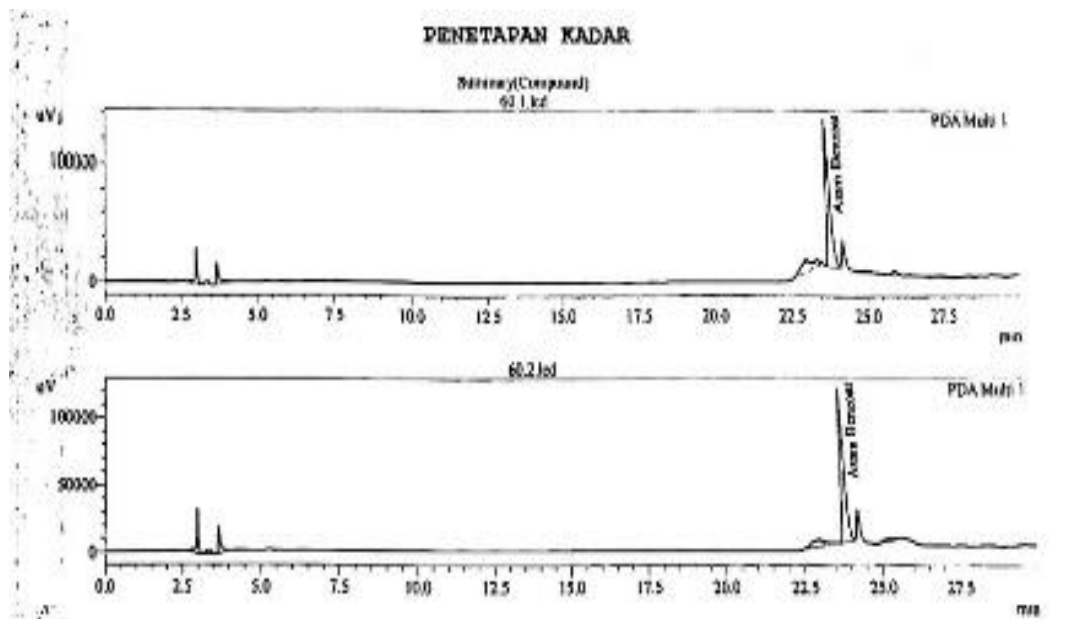
Gambar 1. a) Kromatogram Sampel 1 dan b) Kromatogram Sampel 2

Pada Gambar 1 dapat terlihat bahwa pada spiked sampel yang mengandung baku asam benzoat dibandingkan dengan kromatogram sampel, menunjukkan hasil negatif. Hal ini salah satunya disebabkan oleh fisik dari kedua sampel yang berupa padatan, sehingga tidak dibutuhkan bahan pengawet karna kadar air yang relative rendah sehingga pengawet yang fungsi utamanya sendiri untuk mencegah pembusukan tidak terlalu diperlukan oleh sampel yang minim ditumbuhi mikroorganism, baik jamur maupun bakteri.

Sampel 3 yang merupakan sampel cair, rentan ditumbuhi mikroorganism sebab memiliki kadar air yang tinggi, sehingga memang diperlukan adanya bahan pengawet seperti asam benzoat. Hal ini menyebabkan sampel positif mengandung asam benzoat.



(a)



Gambar 2. a) kromatogram baku asam benzoat dan b) kromatogram sampel 3

Pada Gambar 2. Puncak kromatogram sampel 3 sama dengan puncak kromatogram baku asam benzoat yaitu pada waktu retensi menit ke 23.840 dengan Panjang gelombang 228 nm. Langkah selanjutnya untuk mengetahui apakah sampel tersebut memenuhi syarat yaitu dengan menentukan kadar asam benzoat di dalam sampel obat tradisional dengan membuat kurva kalibrasi baku asam benzoat dengan ketentuan konsentrasi dan luas area sebagai berikut

Tabel 2. Konsentrasi dan luas area baku asam benzoat

No	Konsentrasi (µg/ml)	Luas Area
1	0.50	40662
2	0.99	91573
3	1.98	251368
4	4.96	580138
5	9.92	1201341

Tabel 3. Hasil uji sampel 3 Positif Asam Benzoat

Sampel	Waktu Retensi	Luas Area	Faktor Pengencer	Xi	Kadar
3.1	23.843	967949	2500	8.03	1850.96
3.2	23.836	897853	2500	7.46	1865.65

Penentuan kadar asam benzoat dari sampel yaitu dengan mengalikan factor pengencer dan Xi (kadar baku) lalu dibagi dengan bobot sampel sehingga didapatkan kadar asam benzoat (mg) di dalam suatu sampel (kg) yaitu dengan kadar rata-rata dari sampel 3 sebanyak 1858.30 mg/kg yang mana memenuhi syarat dalam batas penggunaan asam benzoat.



KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang ditemukan didapatkan kesimpulan bahwa dari 3 sampel obat tradisional yang diidentifikasi menggunakan KCKT 2 sampel negative asam benzoat dan 1 sampel positif asam benzoat. Namun masih memenuhi syarat dengan kadar yaitu sebanyak 1858.30 mg/kg. Maka ketiga sampel dikategorikan aman dari asam benzoat sebab masih memenuhi syarat penggunaan asam benzoat pada obat tradisional.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] E. Elisma, H. Rahman, and U. Lestari, "Ppm Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pengolahan Tanaman Obat Sebagai Obat Tradisional Di Desa Mendalo Indah Jambi Luar Kota," *SELAPARANG J. Pengabd. Masy. Berkemajuan*, vol. 4, no. 1, p. 274, 2020, doi: 10.31764/jpmb.v4i1.2736.
- [2] S. Supriadi, S. Suryani, L. Anggresani, S. Perawati, and R. Yulion, "Analisis Penggunaan Obat Tradisional Dan Obat Modern Dalam Penggunaan Sendiri (Swamedikasi) Oleh Masyarakat," *J. Kesehat.*, vol. 14, no. 2, p. 138, 2022, doi: 10.24252/kesehatan.v14i2.20347.
- [3] Lidyawati, M. Nazar, and F. Syahputra, "Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Mayonaise Kemasan Secara Spektrofotometri UV-Vis sebagai Upaya Peningkatan Pengalaman Praktek Mahasiswa Mata Kuliah Kimia Dasar," *J. Sci. Inf. Educ. Creat.*, vol. 23, no. 1, pp. 100–113, 2022.
- [4] F. Adilla, "Review: Metode Analisis Senyawa Asam Benzoat Dalam Produk Makanan Dan Minuman Review: Analysis Methods of Benzoic Acid Compound in Food and Beverage Products," *J. Dunia Farm.*, vol. 5, no. 2, pp. 63–73, 2021.
- [5] BPOM, "Persyaratan Mutu Suplemen Kesehatan," *Perka Bpom 17 No 17 Tahun 2019*, pp. 1–5, 2019.
- [6] M. Khairun, I. Andriansyah, and E. Emmawati, "Review Jurnal: Analisis Kafein Pada Kopi dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)," *J. Dunia Farm.*, vol. 6, no. 1, pp. 26–33, 2021.
- [7] D. O. Seyinde, I. P. Ejidike, and S. Ayejuyo, "HPLC Determination of Benzoic Acid, Saccharin, and Caffeine in Carbonated Soft Drinks," *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 12, no. 04, pp. 15–23, 2019, doi: 10.20902/ijctr.2019.120403.
- [8] K. Raval and H. Patel, "Review on Common Observed HPLC Troubleshooting Problems," *Int. J. Pharma Res. Heal. Sci.*, vol. 8, no. 4, pp. 3195–3202, 2020, doi: 10.21276/ijprhs.2020.04.02.
- [9] E. Aprilia, "Penentuan Kandungan Natrium Benzoat, Natrium Sakarin dan Aspartam dalam Contoh Makanan dan Minuman dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) di Balai POM Mataram," 2015.
- [10] M. M. Rianto, E. Mayasari, and S. Nurfajriah, "Analisis Kadar Benzoat Dan Sorbat Pada Saus Sambal Kemasan Yang Dijual Di Pasar Baru Bekasi Dengan Metode Hplc," *J. Mitra Kesehat.*, vol. 3, no. 1, pp. 22–27, 2020, doi: 10.47522/jmk.v3i1.47.