

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Darah<sup>(6,7)</sup>

Darah mengalir keseluruh tubuh melalui pembuluh darah, karena pekerjaan dan kekuatan jantung yang tidak berhenti memompa dan mendorong darah ke dalam pembuluh-pembuluh darah. Pembuluh-pembuluh darah tidak sama besar, semakin dekat dengan jantung semakin besar dan dinding pembuluh darah yang besar itu lebih tebal dari dinding pembuluh darah yang kecil.

Sel-sel darah ada dua macam yaitu :

- a. Sel-sel darah merah atau eritrosit
- b. Sel-sel darah putih atau leukosit

##### a. Sel-sel darah merah

Jumlahnya lebih banyak daripada sel-sel darah putih. Dalam  $1 \text{ mm}^3$  terdapat 5 juta sel, warnanya merah muda karena berisi hemoglobin. Sel-sel darah merah kecil, bundar, tipis dan tidak mempunyai inti. Sel-sel darah merah dapat mengikat zat asam dan asam arang dengan hemoglobinnya.

##### b. Sel-sel darah putih atau leukosit

Sel-sel darah putih tidak sebanyak sel-sel darah merah. dalam  $1 \text{ mm}^3$  hanya mengandung kira-kira 8000-10000 sel, tidak berwarna tetapi mempunyai inti, bentuk leukosit dan intinya tidak sama.

Sel-sel darah putih dibuat dalam sumsum tulang dan

ada pula yang berasal dari limpa, kelenjar getah bening, atau tonsil.

Selain sel-sel darah merah dan sel-sel darah putih, dalam darah terdapat pula butir-butir kecil disebut sel-sel pembeku atau trombosit, yang sebetulnya bukan sel dan lebih kecil dari sel-sel darah merah.

Plasma darah berguna untuk membawa air dan zat-zat makanan (putih telur, lemak, hidrat arang, garam-garam mineral, vitamin-vitamin) yang sudah dihancurkan dalam alat pencernaan ke segala jaringan tubuh yang memerlukannya. Karena dinding kapiler amat tipis, plasma darah dapat meresap masuk ke dalam jaringan dengan membawa zat-zat makanan. Cairan jaringan ini dinamai getah bening atau limpa.

Secara umum guna darah adalah :

1. Mengangkut zat asam keseluruh tubuh dengan eritrosit-eritrosit.
2. Membagi zat-zat makanan (zat putih telur, lemak, hidrat arang, garam-garam mineral, air, vitamin-vitamin).
3. Sisa-sisa pertukaran zat, yang tidak berguna bagi tubuh, dibawa ke paru-paru, ginjal dan kulit, supaya dapat dikeluarkan.
4. Menjaga kesehatan badan (leukosit-leukosit dan segala antitoksin).
5. Menjaga supaya suhu badan tetap stabil. (6,7)

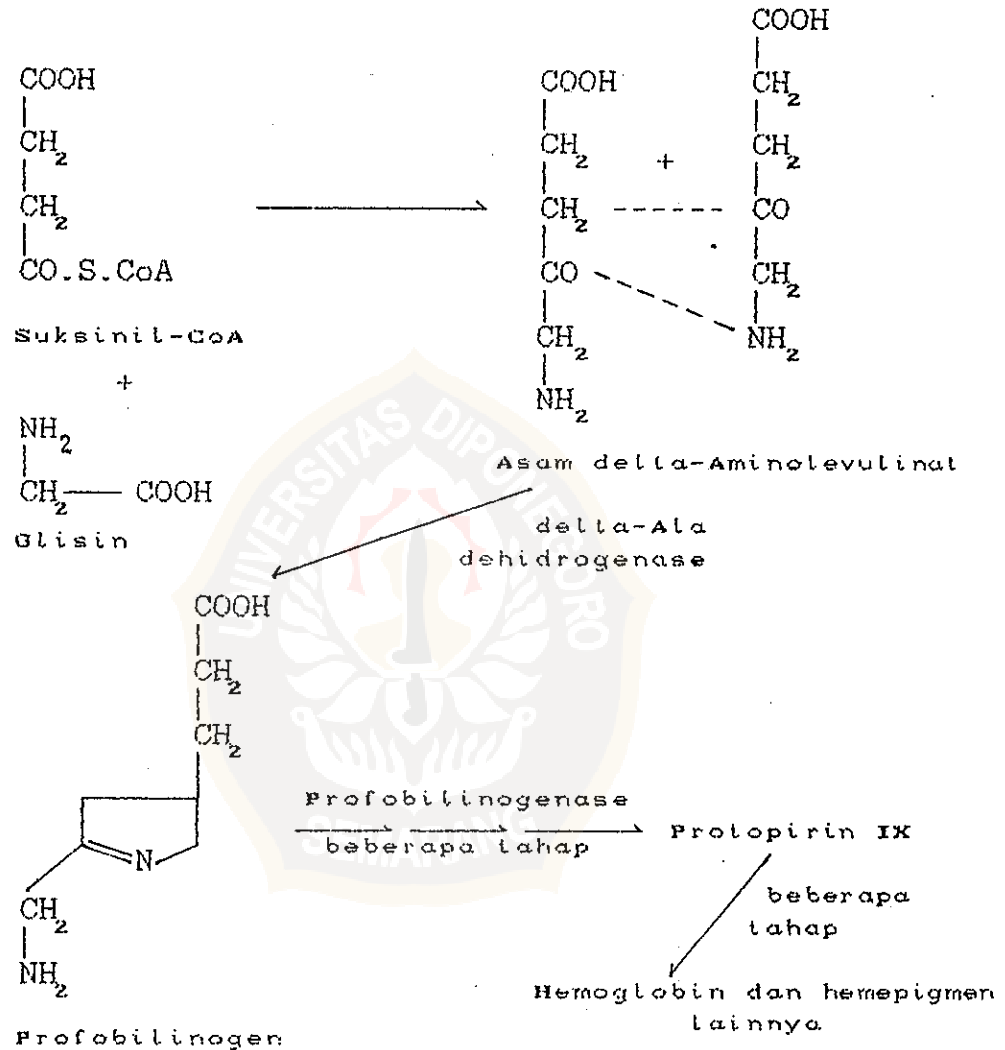
## 2.2. Hemoglobin <sup>(8)</sup>

Warna merah pada darah disebabkan oleh kandungan hemoglobin dalam eritrosit. Hemoglobin merupakan 7,8 sampai 11,2 mmol monomer hemoglobin per liter (12,6-18,4 g/dl) darah, tergantung pada usia dan jenis kelamin. Pada kondisi normal semua hemoglobin darah ada dalam eritrosit. Hemoglobin dibuat dalam eritrosit yang belum masak di dalam sumsum tulang.

Sentrifugasi sampel darah menyebabkan sel-sel mengumpul pada dasar tabung alat sentrifus. Sel-sel ini sebanyak 35% sampai 54% volume darah, tergantung usia dan jenis kelamin, nilai persentase sel-sel yang mengumpul ini disebut hematokrit. Karena kebanyakan sel-sel ini berupa eritrosit, maka hematokrit merupakan ukuran perkiraan pertama jumlah hemoglobin dalam eritrosit.

Hemoglobin orang dewasa normal, Hb A, mengandung dua subunit globin dari satu jenis yang dikenal sebagai rantai- $\alpha$  dan dua subunit jenis lain yang disebut rantai- $\beta$ , sehingga Hb A dinyatakan sebagai  $\alpha_2\beta_2$ . Rantai  $\alpha$  dan  $\beta$  tersebut mempunyai sisa amino terminal L-valin dan konformasinya memiliki proporsi segmen  $\alpha$ -heliks. Rantai  $\alpha$  memiliki 141 sisa asam amino dengan akhiran ujung karboksil L-arginin, dan rantai  $\beta$  memiliki 146 sisa asam amino dengan akhiran ujung karboksil L-histidin. Keempat subunit, dengan sisa-sisa hemanya serupa, mengelompok menjadi tetramer, dengan berat molekul 65.000, yang mula-

mula dapat didisosiasi menjadi dua unit dimer- $\alpha\beta$  dan akhirnya menjadi campuran monomer  $\alpha$  dan  $\beta$ . Bila reagen pendisosiasi yang berupa asam atau alkali dihilangkan maka monomer akan berasosiasi kembali menjadi tetramer  $\alpha_2\beta_2$ .

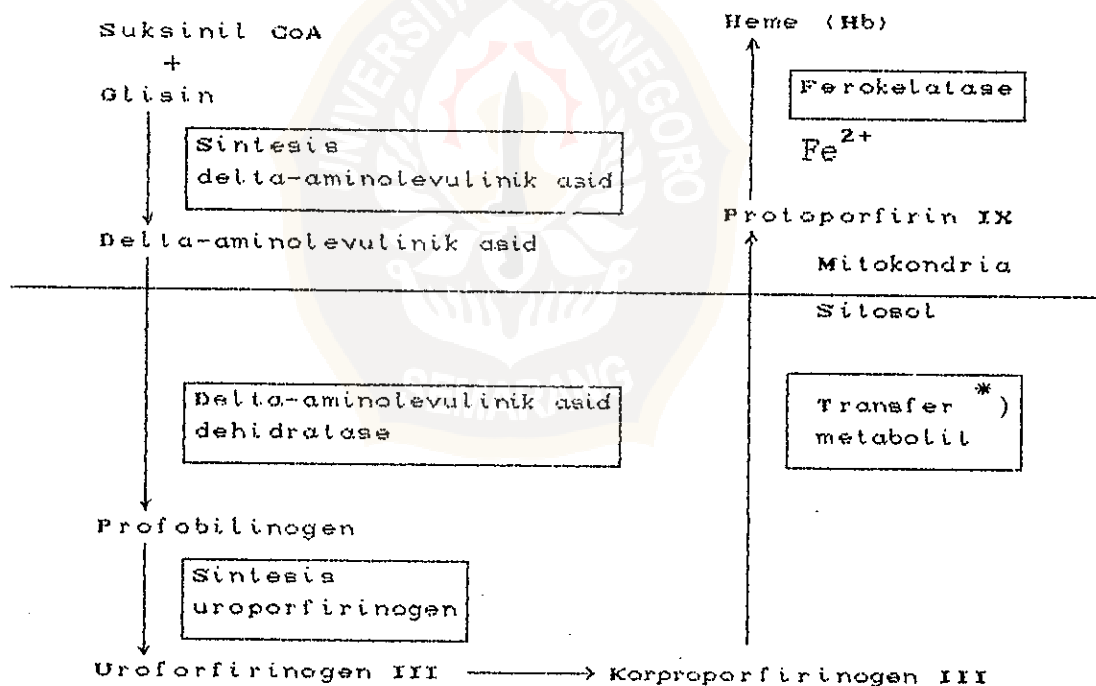


Gambar 2.1. Biosintesis hemoglobin pada hewan.<sup>(8)</sup>

### 2.3. Timbal (Pb)<sup>(3,9,10,11,12)</sup>

Timbal merupakan bahan beracun yang sangat dikenal

dan telah dilakukan penelitian. Timbal berpengaruh terhadap pembentukan sel-sel darah dalam sumsum tulang belakang dan menghambat sintesis hemoglobin. Proses kimiawi untuk menghambat sintesis hemoglobin mekanismenya dapat diterangkan secara sederhana walaupun proses penghambatan oleh timbal tersebut masih belum jelas. Melalui penghambatan dua jenis enzim yaitu asam  $\delta$ -aminolevulinat dehidratase (alad) dan profobilinogenase (pgba) yang menyebabkan pengeluaran asam  $\delta$ -aminolevulinat dan profobilinogen serta menghambat pembentukan heme dan pigmennya. <sup>(3)</sup>



Gambar 2.2 Proses biosintesis Heme (Hb), dimana Pb menghambat proses tersebut. <sup>(3)</sup>

Dahulu timbal banyak digunakan untuk membuat pipa-pipa air minum. Kelebihan dari timbal adalah tidak terpengaruh oleh sejumlah kecil alkali dalam air, dan dapat berlangsung lama. Hanya kesulitannya ialah bila air itu mengandung asam, air akan bercampur dengan timbal dan menghasilkan senyawa-senyawa timbal yang bersifat racun. Itulah sebabnya sekarang pipa-pipa air dibuat dari besi, kuningan, tembaga atau PVC.<sup>(5)</sup>

Kegunaan penting logam timbal dewasa ini adalah dalam membuat cat. Satu senyawa timbal yang digunakan untuk itu adalah timbal karbonat, yang disebut timah putih. Timbal karbonat itu dicampur dengan minyak untuk menghasilkan cat putih yang cemerlang dalam udara bersih. Tetapi udara sering mengandung senyawa-senyawa belerang yang bercampur dengan timbal dan menghasilkan timbal sulfida. Oleh karena timbal ini hitam, maka cat dari timbal karbonat lama-kelamaan menjadi hitam.

Kegunaan yang lain dari logam timbal adalah dalam mesin-mesin. Suatu senyawa timbal yang lain bernama timbal tetraetil biasa ditambahkan ke dalam bahan bakar mobil.

Timbal tidak mengeluarkan sinar, lunak dan lemah, tetapi berat, karena sifatnya yang berat ini maka timbal memberikan manfaat bila memang beratnya yang diutamakan, misalnya dalam pembuatan peluru-peluru.

Timbal meleleh pada suhu  $328^{\circ}\text{C}$ . Tetapi campuran antara timbal dan timah putih meleleh pada suhu yang lebih

rendah, sehingga campuran ini sangat berguna yaitu sebagai pateri.<sup>(9)</sup>

#### 2.4. Metode Analisis Timbal <sup>(2,4,5,11,13)</sup>

Metode yang sering dipakai secara luas dalam penentuan timbal adalah metode dithizone. Metode ini telah diterapkan untuk analisis timbal dalam berbagai matrik seperti misalnya silika, baja, bahan bakar minyak dan bahan-bahan biologis seperti darah.

Tetapi sekarang metode ini telah mulai ditinggalkan karena kurang sensitif dan banyaknya interferensi yang ditimbulkan dari logam lain. Dithizon membentuk senyawa kompleks berwarna dengan banyak logam termasuk dengan Thalium dan Kadmium yang tereksitasi bersama-sama dengan timbal. Tidak seperti logam-logam yang lain, kedua logam ini ternyata tidak dapat dilindungi oleh ion sianida sehingga menyulitkan dalam analisis. Oleh karenanya para ahli kemudian menggunakan metode lain yaitu metode spektrofotometri serapan atom.<sup>(2,4,5,13)</sup>

<sup>(4,5,11,13)</sup>

#### 2.5. Spektrofotometri

##### 2.5.1. Prinsip Dasar Analisis Spektrofotometri Serapan Atom (AAS)

Prinsip dasar analisis dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom adalah terjadinya interaksi antara suatu

energi, terutama energi panas atau energi radiasi dengan atom unsur yang akan dianalisis.

Spektrofotometri serapan atom merupakan suatu metode pengukuran yang didasarkan pada jumlah radiasi yang diserap oleh atom-atom bebas bila sejumlah radiasi dilewatkan melalui sistem yang mengandung atom-atom yang akan dianalisis. Jumlah radiasi yang diserap akan sangat bergantung pada jumlah atom-atom bebas yang terlibat dan pada kemampuan atom-atom itu untuk menyerap radiasi. Oleh karena itu dapat dinyatakan bahwa pemahaman tentang penerapan metode ini dalam analisis kimia akan sangat bergantung pada tingkat pemahaman faktor-faktor yang mempengaruhi proses pembentukan atom-atom bebas serta hilangnya atom-atom itu dari sistem pengukuran.

Pada proses serapan atom, bila atom-atom yang berada pada tingkat tenaga dasar dikenai energi dalam bentuk panas ataupun radiasi, maka akan terjadi penyerapan energi oleh atom-atom tersebut. Penyerapan energi ini akan menyebabkan terjadinya pengurangan intensitas, yang sebanding dengan jumlah atom yang berada pada tingkat dasar. Frekuensi radiasi yang paling banyak diserap adalah frekuensi resonansinya dan frekuensi ini khas (karakteristik) untuk setiap unsur. Oleh karena itu dalam analisis spektrofotometri serapan atom disamping adanya atom-atom yang berada pada tingkat tenaga dasar maka harus ada sinar dengan sifat khas yang dapat mengadakan



interaksi dengan atom tersebut. Sifat khas suatu sinar ditentukan oleh frekuensi atau panjang gelombangnya.

Untuk memperoleh atom-atom pada tingkat tenaga dasar diperlukan tenaga untuk memisahkan keterikatannya dari atom-atom lain dalam molekul persenyawaannya. Tenaga ini umumnya diperoleh dari tenaga nyala. (4,5,14)

### 2.5.2. Interaksi Energi Radiasi Dengan Atom (4,5,14)

Atom terdiri dari inti dan elektron-elektron diluarnya, dimana elektron-elektron ini berada dalam beberapa tingkat tenaga. Apabila sejumlah tenaga diserap oleh sejumlah atom, maka elektron-elektron dari atom-atom tersebut akan tereksitasi ke tingkat tenaga yang lebih tinggi. Keadaan tereksitasi tersebut tidak stabil, oleh karena itu elektron akan kembali ke tingkat tenaga dasar dan tenaga yang diserap akan dipancarkan kembali sebagai tenaga panas atau tenaga radiasi. (4,5,14)

Karena elektron-elektron menempati tingkat tenaga yang diskrit, maka hanya sejumlah tenaga tertentu yang dapat menyebabkan elektron-elektron tersebut akan tereksitasi. Jumlah tenaga tertentu ini ada hubungannya dengan frekuensi atau panjang gelombang ( $\lambda$ ). Hubungan antara tenaga eksitasi, frekuensi, dan panjang gelombang dapat dinyatakan sebagai berikut :

$$E = E_i - E_o = hv = h \left( \frac{c}{\lambda} \right)$$

dimana :

$E$  = tenaga eksitasi

$E_i$  = tenaga eksitasi untuk tingkat tenaga ke-i

$E_o$  = tenaga eksitasi untuk tingkat tenaga ke-o

$h$  = tetapan Planck

$v$  = frekuensi

$\lambda$  = panjang gelombang

$c$  = kecepatan cahaya

### 2.5.3. Proses Atomisasi <sup>(4,5,11,14)</sup>

Untuk mendapatkan atom-atom dalam keadaan bebas perlu dilakukan suatu proses pengatoman dari molekul molekul suatu senyawa yang dianalisis. Proses pengatoman yang banyak dilakukan adalah dengan :

#### a. Pengatoman dengan nyala

Pengatoman dengan nyala dilakukan dengan penyemprotan dan pengabutan larutan yang akan dianalisis kedalam suatu alat pembakar yang kemudian dibakar bersama-sama dengan bahan bahan bakar gas.

#### b. Pengatoman tanpa nyala

Pengatoman tanpa nyala dilakukan apabila jumlah cuplikan sedikit. Cuplikan yang hanya beberapa ml cairan atau beberapa mgr padatan diletakkan didalam tabung grafit yang selanjutnya tabung ini diletakkan dalam tungku untuk dipanaskan.

Berdasarkan peralatan yang tersedia, maka dalam penelitian ini proses pengatoman dilakukan dengan cara yang pertama, yaitu dengan nyala. Untuk mendapatkan nyala yang diperlukan dalam spektrofotometri serapan atom digunakan bermacam-macam campuran gas sebagai pengoksidasi dan bahan bakar. Pemilihan campuran gas ini didasarkan pada beberapa faktor, antara lain suhu yang diperlukan untuk pengatoman dari unsur yang akan dianalisis. Dari beberapa campuran gas yang dapat digunakan ternyata hanya tiga macam yang banyak digunakan dalam analisis spektrofotometri serapan atom, yaitu :

1. udara - propana
2. udara - asetilen
3. nitroksida - asetilen

Campuran gas apa yang digunakan tergantung suhu yang diperlukan untuk proses pengatoman. Untuk unsur-unsur yang sukar teratomkan seperti Si, Al, Ti dan sebagainya diperlukan suhu yang relatif tinggi untuk dapat teratomkan sehingga memerlukan campuran gas Nitroksida - Asetilen.<sup>(4)</sup>

#### 2.5.4. Interferensi Pada AAS<sup>(4,5)</sup>

Interferensi secara luas dapat dikategorikan menjadi dua kelompok yaitu interferensi spektral dan interferensi kimia. Interferensi Spektral disebabkan karena tumpang tindih absorpsi antara spesies yang diukur, karena rendahnya resolusi (pemisahan) monokromator. Sedang

interferensi kimia disebabkan adanya reaksi kimia selama atomisasi, sehingga mengubah sifat-sifat absorpsi.

Beberapa interferensi dapat diuraikan sebagai berikut :

### 1. Radiasi dari unsur lain

Tidak ada garis spektrum mempunyai panjang gelombang yang sama, tetapi dapat saling berdekatan. Emisi suatu logam akan mengadakan interferensi pada waktu menentukan logam yang lain, tergantung pada seberapa dekat garis-garis resonansi dan kualitas monokromatornya. Spektrum pita yang dipancarkan oleh molekul-molekul tereksitasikan yang terbentuk pada proses pembakaran dapat, juga menyebabkan interferensi.

### 2. Penambahan kation

Dalam nyala bersuhu tinggi, beberapa atom logam mungkin terionisasi, misalnya :



Ionnya mempunyai spektrum emisi tersendiri dengan frekuensi-frekuensi yang berbeda dari yang dimiliki oleh spektrum atom.

### 3. Interferensi anion

Disebabkan oleh adanya ion-ion, misalnya ion-ion pospat dan sulfat merendahkan emisi kalsium, sebagai contoh untuk larutan kalsium klorida. Diperkirakan residu padatan yang berasal dari penguapan solven kurang mudah terdisosiasikan menjadi atom daripada kalsium klorida.<sup>(5)</sup>

### 2.5.5. Analisis Timbal Dengan Spektrofotometri Serapan Atom (AAS)

Timbal biasanya ditentukan dengan AAS menggunakan nyala udara - asetilen meskipun nyala lain juga dapat dipakai tanpa adanya interferensi yang berarti. Beberapa metode untuk meningkatkan daya guna (performance) analisis telah banyak diselidiki seperti misalnya modifikasi matrik kimia.

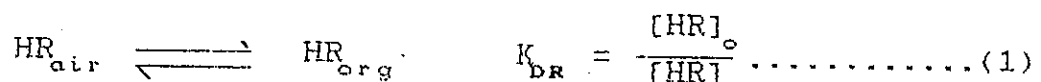
Metode penentuan timbal dengan AAS ini telah banyak diterapkan secara luas baik untuk analisis timbal total, alkil timbal, timbal dalam udara dan air maupun timbal dalam tanah, sedimen dan bahan-bahan biologis. (1,4)

Panjang gelombang resonansi yang dapat dipakai pada penentuan timbal adalah 217,0 nm dan 283,3 nm tetapi yang lebih sering dipakai adalah 217,0 nm. (1,4,13)

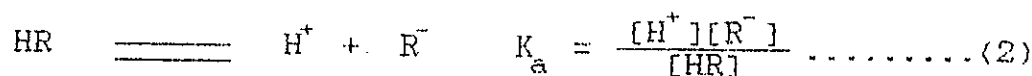
## 2.6. Ekstraksi (4,5,10)

### 2.6.1. Ekstraksi Logam Dengan Pembentukan Khelat.

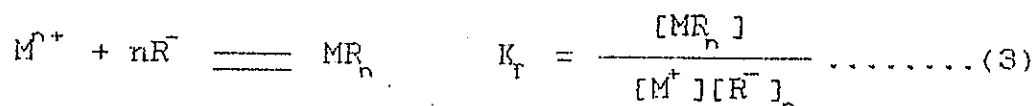
Pada ekstraksi dengan cara pembentukan khelat, reaksi terjadi bila fase air yang mengandung ion logam mengadakan kontak dengan fase organik yang mengandung ligan khelat. Ligan khelat terdistribusi diantara kedua fase tersebut. M adalah ion logam dengan valensi  $n$  dan HR adalah ligan khelat.



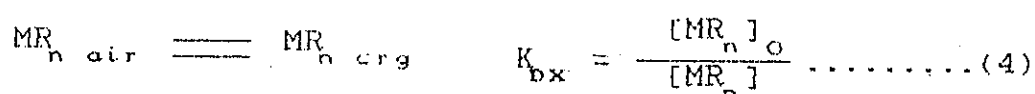
Disosiasi ligan khelat



Anion dari khelat akan bergantung dengan ion logam M membentuk khelat yang dapat diekstraksi.



Khelat terdistribusi pada kedua fase :



Perbandingan distorsi (D) dapat dievaluasi jika khelat  $\text{MR}_n$  pada fase organik dan  $\text{M}^{n+}$  pada fase air :

$$D = \frac{[\text{M}]_o}{[\text{M}]} = \frac{[\text{MR}_n]_o}{[\text{M}^{n+}]} \dots\dots\dots(5)$$

Bila dikombinasikan persamaan (1) sampai (5), akan didapatkan :

$$D = \frac{[\text{MR}_n]_o}{[\text{M}^{n+}]} = \frac{K_f K_a^n K_{dx}}{K_{DR}^n} \cdot \frac{[\text{HR}]_o^n}{[\text{H}^+]^n} \dots\dots\dots(6)$$

Tetapan D tersebut menyatakan perbandingan distribusi untuk logam, dimana :

a. tetapan-tetapan  $K_{dx}$ ,  $K_{DR}$ ,  $K_f$  dan  $K_a$  merupakan sifat dari zat-zat tertentu dalam sistem yang dipilih.

$K_f$  adalah konstanta pembentukan kompleks logam,  $K_a$  adalah disosiasi asam,  $K_{dx}$  adalah koefisien distribusi kompleks.  $K_{DR}$  adalah koefisien distribusi dari ligan (HR).

b. variabel-variabel  $[HR^+]^n_{org}$  dan  $[H^+]^n$  yang berubah dalam percobaan

### 2.6.2. Ekstraksi Bertahap

Ekstraksi bertahap merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana, caranya dengan menambahkan pelarut pengestraksi yang tak tercampur dengan pelarut. Mula-mula dilakukan pengocokan sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat terlarut dalam kedua larutan, kemudian didiamkan dan dipisahkan. Apabila koefisien distribusi zat terlarut tidak kecil / tidak besar maka hasil ekstraksi sangat dipengaruhi oleh banyaknya ekstraksi yang dilakukan.

Jika  $V$  ml larutan fase 1 mengandung  $W$  gr zat terlarut diekstraksi dengan  $S$  ml pelarut lain ( fase 2 ), setelah kesetimbangan akan didapat  $W_1$  yaitu berat (gr) zat terlarut yang masih tersisa difase 1. Maka :

$$\text{konsentrasi pada fase 1} = \frac{W_1}{V} \text{ gr/ml} = C_1$$

$$\text{konsentrasi pada fase 2} = \frac{(W - W_1)}{S} \text{ gr/ml} = C_2$$

$$\text{perbandingan distribusi (D)} = \frac{C_2}{C_1}$$

$$D = \frac{C_2}{C_1} = \frac{(W - W_1)/S}{W_1/V}$$

$$W_1 = W \left| \frac{V}{(DS + V)} \right|$$

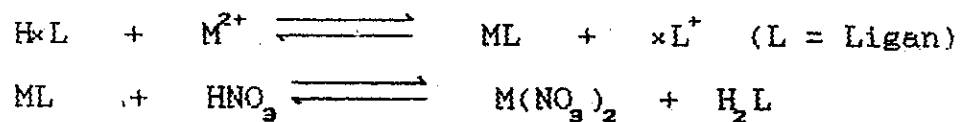
Untuk n ekstraksi  $W_n = W \left[ \frac{V}{(DS + V)} \right]^n$

Secara umum pemilihan metode ekstraksi yang dipakai tergantung pada perbandingan distribusi zat terlarut dalam kedua fase zat pelarut dan zat-zat lain yang bercampur dan mengganggu proses pemisahan.<sup>(4,5)</sup>

## 2.7. Analisis Timbal Dalam Darah Dengan AAS

Analisis timbal dalam darah dilakukan dengan ekstraksi menggunakan pengomplek Amoniumpirolidinditio-karbamat (APDC) dengan pelarut organik Metilisobutylketon (MIBK). Metode ini cukup sensitif karena terjadi pemisahan dan pemekatan saat ekstraksi. Untuk metode analisis timbal dalam darah dengan metode tanpa ekstraksi digunakan reagen untuk hemolisis darah dan modifikasi matrik kimia. Dalam penelitian ini digunakan asam nitrat sebagai pereaksi hemolisis dan magnesium nitrat sebagai *modifier-stabilizer* matrik kimia.<sup>(1,4,5)</sup>

Skema reaksinya adalah :



dimana :

- H·L adalah sebagai protein
- M<sup>2+</sup> adalah sebagai ion logam