

4. PEMBAHASAN

4.1. Uji Pendahuluan

4.1.1. Preparasi Standar Internal

Mikroplastik yang diharapkan dapat digunakan sebagai standar internal adalah PE,PP,PS, dan PVC. Keempat jenis polimer tersebut adalah polimer yang paling sering terdeteksi dalam analisis mikroplastik serta menyumbang hampir dua pertiga dari produksi polimer di Eropa pada tahun 2016 (Huppertsberg dan Knepper, 2018). Wu *et al.* (2017) juga menyatakan bahwa enam jenis plastik yang paling banyak diproduksi adalah PE (29,6 %); PP (18,9 %); PVC (10,4 %); PUR (7,4%); PS (7,1%); dan PET (6,9%). Jenis plastik tersebut memiliki ikatan hidrogen yang stabil yang dibutuhkan secara komersial dalam berbagai macam aplikasinya, namun menimbulkan kerusakan di lingkungan karena sulit terdegradasi.

Reference material (standar internal) PE diperoleh dari lulur. PE merupakan salah satu polimer yang paling umum digunakan dalam produk kecantikan sebanyak 42.6%, berturut-turut diikuti oleh nilon-12 (28,4%), dan PMMA (10,2%) (O'Farrell, 2018). Studi Fendall dan Sewell (2009) menemukan partikel PE dalam empat jenis pembersih wajah. PE dari lulur dapat diekstrak untuk menghasilkan *microbeads*. *Reference materials* PP, PS, dan PVC didapatkan dari gelas *cup* plastik, gabus, dan pipa paralon (Huppertsberg dan Knepper, 2018).

Berdasarkan hasil observasi, partikel PE berbentuk bulat (*beads*), sedangkan PP, PS, dan PVC memiliki bentuk yang tidak beraturan. Hasil tersebut sesuai dengan Leslie (2014) yang menyebutkan bahwa partikel mikroplastik dari produk kecantikan biasanya berbentuk bulat (*beads*). Bentuk yang tidak beraturan pada PP, PS, dan PVC kemungkinan terkait dengan cara penyediaannya yaitu menggunakan gergaji (serbuk) sehingga tidak dapat dikontrol dari segi bentuk dan ukurannya. Semua partikel *reference materials* yang diukur berkisar antara 345,1 – 784,1 μm (<5000 μm), sehingga dapat dikategorikan sebagai mikroplastik (Colom *et al.*, 2018).

Identifikasi menggunakan FTIR bertujuan untuk memastikan jenis polimer. FTIR adalah salah satu instrumen yang tepat untuk mendeteksi polimer plastik. Analisis dengan FTIR memiliki kelebihan yaitu sederhana dan efisien. Pada pengukuran FTIR, polimer diidentifikasi berdasarkan serapan inframerahnya (Jung *et al.*, 2017). Semua skor kemiripan yang diperoleh ≥ 800 (PE = 878, PP = 846, PS = 904, dan PVC = 904). Skor tersebut menunjukkan bahwa *scrub* pada lulur, gelas *cup*, gabus, dan pipa paralon yang digunakan sebagai standar internal teridentifikasi benar sebagai PE, PP, PS, dan PVC. Menurut Avio *et al* (2015), skor kemiripan dapat dinyatakan akurat bila nilai kemiripan antara spektra polimer yang diuji dengan struktur kimianya minimal $\geq 60\%$.

Larutan H₂O₂ 30% perlu dipastikan tidak merusak partikel *reference material* yang digunakan. PS dipilih sebagai acuan karena paling tidak resisten terhadap senyawa pengoksidasi dibandingkan polimer lainnya, yaitu PE, PP, dan PVC sesuai dengan daftar dari Dynalab Corp. (2019). Dari hasil percobaan digesti PS dengan H₂O₂ 30%, diperoleh *recovery rate* 90-110%. Selain itu, diperoleh hasil bahwa semakin lama waktu digesti maka rata-rata panjangnya semakin kecil. Degradasi juga dapat mengakibatkan pemecahan partikel, seperti yang terjadi pada digesti selama 72 jam. Hal ini didukung oleh Chandra *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa PS adalah polimer yang mudah terpecah menjadi ukuran yang lebih kecil, yang mengakibatkan jumlah partikel yang ditemukan lebih banyak.

Skor kemiripan yang diperoleh berkisar 919-950 (PS). Skor kemiripan yang tinggi (≥ 800) serta hasil identifikasi polimer yang tidak berubah menandakan bahwa tidak terjadi perubahan struktur kimia PS akibat digesti dengan H₂O₂ 30%. Struktur kimia ditetapkan berdasarkan spektra FTIR. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa metode digesti PS dengan H₂O₂ 30% tergolong optimal karena partikel PS menghasilkan *recovery rate* yang tinggi dan tidak mengalami perubahan struktur kimia. Dengan demikian penggunaan H₂O₂ dipastikan tidak merusak PS yang paling tidak resisten, sehingga keempat standar internal tersebut dapat digunakan pada penelitian utama. Terdapat dua wilayah (*region*) spektrum FTIR yaitu *functional group* dan *fingerprint*. Wilayah *functional group* terletak diantara 4000 hingga sekitar 1500cm⁻¹ dan semua frekuensi dibawah 1500cm⁻¹ dianggap sebagai wilayah *fingerprint*. Wilayah *fingerprint* memberikan indikasi keseluruhan

struktur polimer berdasarkan ikatan kimianya (Hernandez *et al.*, 2019), sedangkan *functional group* secara spesifik mengkarakterisasi gugus tertentu dari senyawa kimia. Identifikasi ikatan kimia senyawa yang diteliti sebaiknya difokuskan pada wilayah *functional group*. Spektrum hasil pengukuran dibandingkan dengan spektra *reference* yang tersedia pada database untuk menetapkan identitas kimia sampel (Sun, 2009).

4.1.2. Optimasi Digesti Larutan H₂O₂ 30%

Digesti dengan H₂O₂ 30% dengan rasio sampel:pelarut 1:20 (*w/v*) dapat mendigesti seluruh jaringan sampel yang ditandai dengan kejernihan larutan selama 48 jam, sedangkan digesti dengan rasio sampel:pelarut 1:10 dan 1:30 (*w/v*) memerlukan waktu yang lebih lama yaitu 72 jam agar dapat mendigesti seluruh komponen organiknya. Namun, kitin pada udang tidak dapat hancur sempurna karena kitin bersifat sangat sulit larut dalam air dan beberapa pelarut organik, reaktivitas kimianya rendah, serta sangat hidrofobik (Kaimudin dan Leounupun, 2016). Pada proses penyaringan hasil digesti dan pengamatan dengan mikroskop, larutan sampel dengan rasio 1:10; 1:20; dan 1:30 (*w/v*) dapat dilakukan dengan mudah. Larutan H₂O₂ 30% memiliki sifat sebagai senyawa pengoksidasi dan bersifat asam sehingga dapat menghancurkan seluruh komponen organik pada jaringan dan memiliki *recovery rate* yang tinggi (Jin Feng *et al.*, 2018; Waddel, 2018; Waite *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2016). Metode digesti terbaik yang digunakan untuk mendigesti sampel udang pada penelitian utama yaitu H₂O₂ 30% dengan rasio sampel:pelarut 1:20 (*w/v*) selama 48 jam. Selain itu, kondisi digesti terbaik yang dipilih harus dipastikan aman untuk dilakukan di laboratorium (Avio *et al.*, 2015).

4.2. Penelitian Utama

4.2.1. Recovery Standar Internal pada Sampel Udang

Dari hasil pengamatan, *recovery rate* standar internal sebelum dan pasca digesti secara berurutan yaitu PE (54%); PP (68%); PS (92%); dan PVC (100%). *Recovery rate* dapat dipengaruhi oleh karakteristik fisik, seperti penampakan visual (warna dan ukuran), hasil digesti sampel pada kertas saring, dan massa jenis, serta ketelitian pengukuran. PE memiliki *recovery rate* yang paling rendah karena jumlah partikel yang didapatkan pasca digesti paling sedikit, sedangkan PVC memiliki *recovery rate* 100%, karena keseluruhan partikel yang ditambahkan sebelum digesti dapat ditemukan kembali pasca digesti.

Apabila dilihat dari ukuran standar internal sebelum digesti, PE memiliki ukuran yang paling pendek yaitu 598.7 μm , dibandingkan jenis partikel yang lain. Menurut Leslie (2014), partikel *microbeads* yang digunakan dalam produk kecantikan berukuran sangat kecil ($<1000 \mu\text{m}$) sehingga sulit untuk dilihat dengan mata telanjang. Oleh karena itu, partikel PE pasca digesti pada sampel udang menjadi sulit untuk ditemukan, sehingga *recovery ratenya* paling rendah. Standar internal lainnya, seperti PP, PS, dan PVC memiliki ukuran yang lebih besar ($>1000 \mu\text{m}$). Hasil pengukuran panjang PP, PS, dan PVC secara berurutan yaitu 1259.2; 1417.1; dan 1315 μm , sehingga pada pengamatan pasca digesti lebih mudah ditemukan.

Warna dari *scrub* dengan kandungan *microbeads* PE yaitu putih. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Möhlenkamp *et al.* (2018) pada 6 jenis *microbeads* yang dianalisis memiliki warna putih. Partikel standar internal PP memiliki warna transparan (Maddah, 2016). Warna dari partikel PE, PP, dan PS yang putih hingga transparan hampir menyerupai warna sisa kitin dari sampel udang. Hal tersebut mengakibatkan saat pengamatan kertas saring hasil digesti menggunakan mikroskop, ada kemungkinan partikel PE, PP, dan PS tertutupi oleh sisa kitin yang tidak dapat hancur secara sempurna. Perbedaan warna yang tidak jauh antara polimer tersebut dengan kitin mengakibatkan *recovery ratenya* menjadi lebih rendah. Standar internal PVC memiliki warna abu-abu kehitaman, sehingga mudah untuk diamati.

Massa jenis PE, PP, PS, dan PVC secara berurutan yaitu $0,917 - 0,965 \text{ g/cm}^3$; $0,9 - 0,91 \text{ g/cm}^3$; $1,04 - 1,1 \text{ g/cm}^3$; dan $1,16 - 1,58 \text{ g/cm}^3$ (Brate *et al.*, 2017). Nilai dari massa jenis menunjukkan seberapa rapat molekul penyusun plastik tersebut. Plastik dengan massa jenis yang lebih kecil memiliki permeabilitas yang rendah, sehingga mudah ditembus oleh fluida (Birley *et al.*, 1988). PE dan PP memiliki massa jenis yang hampir sama tetapi lebih kecil dibandingkan PS dan PVC. Plastik yang memiliki struktur dengan kerapatan yang lebih rendah cenderung mudah mengalami degradasi. Hal tersebut dapat mengakibatkan jumlah partikel standar internal PE dan PP yang didapatkan pasca digesti lebih sedikit jika dibandingkan dengan PS dan PVC, sehingga mempengaruhi *recovery ratenya*.

4.2.2. Perubahan Ukuran Standar Internal pada Sampel Udang

Keseluruhan standar internal sebelum dan pasca digesti diukur panjang, keliling, dan luas. Adanya perubahan ukuran kemungkinan dapat disebabkan oleh resistensi polimer dengan pelarut digesti, proses digesti, perbedaan posisi pengukuran, dan *recovery* standar internal.

Perubahan ukuran pada standar internal dapat disebabkan karena efek dari larutan digesti yang digunakan. Paparan dari pelarut kimia dapat mengakibatkan degradasi secara fisik (Campo, 2008), yang dapat mengakibatkan perubahan ukuran panjang, luas, dan kelilingnya. Dari keempat jenis standar internal, urutan resistensinya terhadap senyawa pengoksidasi yaitu PVC>PE>PP>PS ((Elragi, 2006; Maddah, 2016; Pethukova, 2016). Resistensi kimia adalah kemampuan bahan polimer untuk mempertahankan sifat aslinya setelah terpapar oleh pereaksi kimia dalam jangka waktu tertentu (Campo, 2008).

Selain itu, pengukuran partikel standar internal tidak sama antara sebelum dan pasca digesti karena tidak dapat dipastikan posisinya selama proses. Perbedaan posisi tersebut mengakibatkan perubahan ukuran sebelum dan pasca digesti. Partikel standar internal diukur hanya dilakukan di permukaannya saja (2 dimensi), sedangkan standar internal yang digunakan berbentuk tidak beraturan, sehingga ada kemungkinan area yang diukur sebelum dan pasca digesti berbeda. Selain itu, ketika tidak semua partikel dapat ditemukan kembali (*recovery rate*), maka nilai rata-rata ukuran partikel sebelum dan pasca digesti dapat sangat berbeda.

Berdasarkan hasil uji statistik terhadap perubahan ukuran sebelum dan pasca digesti, tidak terdapat beda nyata yang signifikan antar keduanya. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa metode digesti menggunakan H₂O₂ 30% dengan rasio sampel:pelarut 1:20 (*w/v*) tidak mengakibatkan perubahan ukuran yang signifikan terhadap polimer PE, PP, PS, dan PVC.

4.2.3. Identifikasi Standar Internal Pasca Digesti

Partikel mikroplastik standar internal yang diperoleh pasca digesti diidentifikasi menggunakan FTIR. Prinsip kerja FTIR yaitu dengan mengenali gugus-gugus fungsi dari suatu senyawa dari serapan inframerah pada senyawa tersebut. Pola serapan tiap-tiap

senyawa berbeda sehingga setiap senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan dalam bentuk skor (Sjahfirdi *et al.*, 2015). Hasil dari interaksi antara senyawa-senyawa kimia dalam matriks sampel yang kompleks tersebut dinyatakan dalam bentuk spektrum. Dari hasil identifikasi standar internal pada sampel udang pasca digesti, diperoleh skor FTIR dari yang tertinggi sampai terendah secara berurutan yaitu PS (903); PE (892); PVC (861); dan PP (800).

Skor tersebut menunjukkan nilai kemiripan antara spektra sampel yang diuji dengan spektra standar dari *database* yang tersedia. Keseluruhan skor yang diperoleh ≥ 800 sehingga dapat menjadi acuan konfirmasi dari jenis polimer yang diuji. Spektrum FTIR sangat kaya akan informasi struktur molekular dengan serangkaian pita serapan yang spesifik untuk masing-masing molekul, sehingga dapat digunakan untuk membedakan suatu sampel yang memiliki kemiripan (Rafi *et al.*, 2016). Avio *et al* (2015) menyatakan bahwa nilai kemiripan antara polimer dengan struktur kimianya $>60\%$. Colom *et al* (2018) menambahkan skor kemiripan antara sampel dengan referensi spektranya $>70\%$. Dari hasil identifikasi yang diperoleh, dapat dinyatakan bahwa metode digesti H_2O_2 30% dengan rasio 1:20 (*w/v*) tidak mengakibatkan perubahan struktur kimia dari standar internal PE, PP, PS, dan PVC.

4.2.4. PSM (Particle Suspected as Microplastics) pada Sampel Udang

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada sampel udang dari Pasar Kobong, Semarang, ditemukan adanya partikel terduga sebagai mikroplastik atau PSM (*Particle Suspected as Microplastics*). Penelitian ini menggunakan keseluruhan udang termasuk kulitnya untuk didigesti. (Devriese *et al.*, 2015). Partikel-partikel tersebut ditemukan dalam bentuk dan jumlah yang berbeda. Bentuk partikel yang ditemukan pada sampel udang yaitu fiber dan fragmen. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Colom *et al* (2018) menemukan PSM dalam bentuk fragmen dan fiber pada udang jenis *Aristeus antennatus* serta Devriese *et al* (2015) yang menemukan PSM dalam bentuk fiber sebanyak 63% dari total sampel udang yang diuji. Fiber memiliki bentuk yang tipis dan panjang seperti serat sintesis, sedangkan fragmen merupakan pecahan dari plastik yang berukuran besar. Jika mikroplastik yang ditemukan tidak dapat diidentifikasi

sebagai fiber, pellet, ataupun film, maka dapat dikategorikan sebagai fragmen (Ayuningtyas, 2019).

Dari keseluruhan sampel udang ditemukan PSM dengan 52,1% berbentuk fragmen dan 47,9% berbentuk fiber. PSM berbentuk fiber dan fragmen ditemukan di seluruh sampel udang yang digunakan untuk analisa. Hasil penelitian Devriese *et al* (2015) menunjukkan sebanyak 63% udang coklat yang dianalisa didominasi oleh serat sintetis. Perbedaan dengan hasil penelitian disebabkan karena lingkungan hidup, jenis makanan, serta tingkat pencemaran yang berbeda. Sampel penelitian Devriese *et al* (2015) diperoleh dari perairan Prancis dan Belgia yang memiliki tingkat pencemaran plastik yang lebih rendah dari Indonesia (Jambeck *et al.*, 2015).

Range panjang PSM pada sampel udang yang ditemukan yaitu 11 – 3240.1 μm . Ada kemungkinan udang menelan mikroplastik karena ukurannya yang menyerupai mangsa, seperti pada plankton *Tintinnopsis lobiancoi* 2.8 – 23.8 μm , *copepod* 400-1000 μm , *chaetognaths* 4000-10000 μm (Setala *et al.*, 2014). Akumulasi mikroplastik di saluran pencernaan dapat mengakibatkan terlarutnya komponen kimia berbahaya serta memungkinkan adanya transport zat kimia ke organ. Browne *et al.* (2008) menyatakan mikroplastik dengan ukuran <150 μm dapat berpindah dari rongga – rongga usus ke getah bening dan sirkulasi darah. Devriese *et al* (2015) juga menyatakan partikel dengan ukuran 10-20 μm dapat mengalami perpindahan dari saluran pencernaan ke jaringan.

Pada blanko juga ditemukan PSM dalam bentuk fiber dengan ukuran 972.9 ± 685.1 mikroplastik/blanko dan fragmen dengan ukuran 137.9 ± 85.7 mikroplastik/blanko. Selain itu juga ditemukan PSM pada blanko udara di ruang asam dan di laboratorium molekuler. PSM pada kontrol udara disebabkan karena 98% aktivitas darat berkontribusi dalam munculnya mikroplastik. Mikroplastik tersebut dapat terbawa angin dan menyebar di udara (Boucher dan Friot, 2017)

4.2.5. Implikasi Toksikologis dan Keamanan Pangan

PE dan PP dapat menyerap POPs (PCBs, PAHs, DDT atau HCB) dalam konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan polimer lain (Rochman *et al.*, 2013, Smith *et al.*, 2018, Hastuti

et al., 2019). PVC mengandung komponen kimia berbahaya seperti phthalate, BPA, dioxin, dan cadmium yang dapat menyebabkan kanker, perubahan genetik, bronkitis kronis, bisul, penyakit kulit, kehilangan penglihatan, gangguan pencernaan, dan gagal liver. Paparan *styrene* dalam waktu lama dapat mengakibatkan neurotoksin, hematological, cytogenetik, dan efek karsinogenik lainnya (Proshad *et al.*, 2018).

PE adalah polimer yang mengalami perubahan ukuran terbesar. Terdegradasinya partikel ke ukuran yang lebih kecil mengakibatkan partikel tersebut semakin mudah masuk ke dalam tubuh biota perairan. Dalam 33 studi analisis mikroplastik yang telah dilakukan, sebanyak 79% teridentifikasi sebagai polimer PE (Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012).

Pada sampel udang, ukuran PSM berbentuk fiber berkisar 25.4 – 3111.2 μm , sedangkan fragmen berkisar 11 – 716.5 μm . Fragmen kemungkinan berasal dari pecahan makroplastik melalui proses fisik, kimia, atau bantuan panas dan cahaya yang menghasilkan bentuk tidak beraturan, contohnya potongan botol, pipa paralon, dan kantong plastik (Browne *et al.*, 2008). Fragmen biasanya mengandung PP, PE, PS, polyester, dan PVC (Andrady, 2011). Dampak negatif dari paparan fragmen tergantung dari jenis polimer yang teridentifikasi dan tingkat paparannya.

Fiber mempunyai densitas yang lebih rendah dibandingkan fragmen. Sumber mikroplastik fiber diduga berasal dari kain sintesis, limbah *laundry*, dan alat tangkap nelayan seperti jaring ikan serta tali pancing (Ayuningtyas, 2019). Fiber sintetis yang paling banyak diproduksi yaitu PP, acrylic, polyamida, polyester. Polyester ditemukan sebagai mikroplastik yang paling banyak ditemukan dalam sedimen dan perairan, diikuti oleh acrylic dan polyamide (Folko, 2015).

Efek mikroplastik dalam berbagai bentuk terhadap kesehatan tergantung dari konsentrasi paparannya (Smith *et al.*, 2018). Oleh karena itu, perlu adanya analisis resiko untuk memberikan keamanan pangan. Sampai saat ini, mikroplastik belum ditetapkan sebagai senyawa beracun dengan daya racun (*toxicity*) tertentu. (Widianarko dan Hantoro, 2018). Keberadaan mikroplastik dalam *seafood* melanggar kriteria keamanan pangan UU Nomor 18 tahun 2012 tentang Pangan yang berisi “Keamanan Pangan adalah kondisi dan upaya

untuk mencegah Pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi”. Mikroplastik masih digolongkan sebagai “benda lain”, karena belum diketahui secara pasti daya racun dan efeknya terhadap kesehatan manusia.

Untuk mengetahui efek mikroplastik terhadap kesehatan manusia, perlu dilakukan analisis resiko menggunakan data yang valid. Dengan penggunaan *reference material* sebagai standar internal, analisis mikroplastik menjadi lebih baik, karena dapat dipastikan polimer yang ditambahkan dan yang dihasilkan, sehingga metode yang dilakukan dianggap sesuai. GESAMP (2015) menyatakan untuk memastikan konsistensi dari suatu pengukuran perlu adanya penjaminan mutu seperti penambahan *references material*. Selain itu, metode dengan menggunakan *reference material* menghasilkan hasil penelitian yang tervalidasi dan terverifikasi (Emons *et al.*, 2006). Dengan adanya metode standar yang telah tervalidasi maka dapat dilakukan analisa risiko lebih lanjut mengenai dampak mikroplastik (Huppertsberg dan Knepper, 2018).

