

4. PEMBAHASAN

4.1. Uji Pendahuluan

4.1.1. Preparasi *Reference Material* (Standar Internal)

Jenis polimer mikroplastik yang diharapkan dapat digunakan sebagai *reference material* (standar internal) adalah PE, PP, PS, dan PVC. Menurut Wu et al (2017), 6 jenis polimer plastik yang paling banyak diproduksi secara global adalah PE (29,6%), PP (18,9%), PVC (10,4%) PUR (7,4%), PS (7,1%), dan PET (6,9%). Keseluruh jenis polimer memiliki ikatan hidrogen yang stabil sehingga sulit untuk terdegradasi. GESAMP (2015) menambahkan bahwa jenis polimer yang paling banyak ditemukan dalam sedimen dan laut adalah PE (79%), PP (64%), dan PS (40%).

PE merupakan polimer yang banyak ditemukan pada produk *facial scrubs* dan pasta gigi dalam bentuk *microbeads*. Sekarang ini, *microbeads* dikonfirmasi sebagai kontributor polusi plastik terbesar (Wu et al., 2017). Polimer PP biasa digunakan untuk membuat cup plastik dan tutup botol (Surono et al., 2013). Polimer PS dapat diperoleh dari kontainer berbahan dasar gabus, sementara PVC dapat diperoleh dari pipa (GESAMP, 2015).

Berdasarkan hasil pengamatan, PE mempunyai bentuk bulat sedangkan PP, PS, dan PVC tidak beraturan. Sesuai dengan Leslie (2014), *microbeads* yang terdapat pada produk kecantikan berbentuk bulat. Bentuk tidak beraturan disebabkan karena cara penyediaan polimer dengan menggunakan gergaji. Secara mikroskopik, keempat jenis standar internal mempunyai rata-rata panjang dibawah 5000,00 μm sehingga menurut GESAMP (2015) standar internal yang diperoleh dapat dikategorikan sebagai mikroplastik. Sebagai konfirmasi, dilakukan pengukuran spektra dari masing-masing jenis standar internal untuk dibandingkan dengan spektra polimer dari *library* menggunakan instrumen *micro-FTIR*. Sesuai dengan Tagg et al (2015), *micro-FTIR* merupakan instrumen yang dapat mengidentifikasi jenis polimer melalui komparasi spektrum serapan inframerah.

Berdasarkan hasil konfirmasi, keempat jenis standar internal mempunyai tingkat kemiripan yang tinggi (≥ 800) dengan masing-masing jenis polimer pada *library*. Standar internal PE mempunyai tingkat kemiripan sebesar 878 dengan polimer LLDPE, PP mempunyai tingkat kemiripan sebesar 846 dengan polimer D_PP, PS mempunyai tingkat kemiripan sebesar 904 dengan polimer PS, dan PVC mempunyai tingkat kemiripan sebesar 904 dengan polimer PVC. Tingkat kemiripan antara spektrum sampel dengan spektrum standar dari *database* polimer diatas 60% dapat dikonfirmasi sebagai jenis polimer tertentu (Lusher et al., 2013).

Struktur kimia polimer ditetapkan berdasarkan spektrum FTIR yang terdiri dari wilayah *fingerpint frequency* dan wilayah *group frequency*. *Micro-FTIR* akan memancarkan radiasi sinar inframerah yang menyebabkan getaran pada molekul. Frekuensi getaran molekul berbeda-beda, tergantung dari ikatan kimia yang dimilikinya. Area *fingerpint* memberikan indikasi keseluruhan struktur polimer berdasarkan ikatan kimianya (Ramírez-hernández et al., 2019). Sedangkan *group frequency* secara spesifik mengkarakterisasi gugus fungsi tertentu dari senyawa kimia.

Untuk memastikan agar metode digesti tidak merusak partikel mikroplastik yang digunakan sebagai *reference material*, maka perlu dipastikan bahwa partikel-partikel tersebut tidak mengalami perubahan fisik. PS dipilih sebagai acuan karena paling tidak resisten dibandingkan polimer lainnya yaitu PE, PP, dan PVC sesuai dengan daftar dari *Dynalab Corp* (2019). Penentuan resisten atau tidaknya polimer didasarkan pada ketahanan terhadap jenis pelarut, suhu, dan densitas.

Untuk ketahanan terhadap jenis pelarut, keempat jenis polimer resisten terhadap larutan basa. Sedangkan untuk ketahanan fisik terhadap suhu tinggi, *Dynalab Corp* melaporkan bahwa diantara keempat jenis plastik, PS dan PVC tergolong 2 yang terendah yaitu pada suhu 70°C. Ditinjau dari massa jenisnya, PS memiliki densitas lebih rendah (1,04-1,09) dibandingkan dengan PVC (1,16-1,30) (GESAMP, 2015). Hal ini menandakan bahwa kerapatan struktur PS lebih rendah dibandingkan dengan PVC sehingga akan lebih mudah teruraikan. Berdasarkan ketiga hal tersebut diatas, dapat ditarik kesimpulan bahwa plastik PS paling tidak resisten diantara semua jenis polimer.

Recovery rate yang tinggi (70-100%) dan perubahan ukuran yang relatif rendah (-0,2 % s/d -26,2%) pada polimer PS setelah digesti dengan pelarut KOH 10% menandakan bahwa kondisi digesti tidak menyebabkan perubahan yang signifikan. Hal ini dapat disebabkan karena suhu yang digunakan untuk digesti masih dibawah ketahanan maksimum PS terhadap suhu tinggi. Skor kemiripan yang tinggi (≥ 800) pada analisis FTIR menandakan bahwa tidak terjadi perubahan gugus fungsi yang signifikan pada partikel akibat proses digesti. Dengan demikian, penggunaan KOH 10% dapat dipastikan tidak merusak struktur kimia *reference material* PS. Oleh karenanya, keempat jenis mikroplastik dapat ditetapkan sebagai polimer untuk standar internal dalam penelitian utama.

4.1.2. Optimalisasi Digesti Kerang Darah dengan Pelarut KOH 10%

Dalam optimalisasi digesti kerang darah, digunakan pelarut KOH 10%. Menurut Kühn et al (2017), KOH berkemampuan untuk melarutkan seluruh komponen organik yaitu jaringan organisme laut dan menyisakan mikroplastik yang dibutuhkan untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Diperkuat oleh Thiele et al (2019) bahwa larutan KOH 10% dapat menghancurkan jaringan bivalvia dengan baik. Lusher and Hernandez-Milian (2018) menambahkan bahwa KOH memiliki harga yang ekonomis dan mudah untuk didapatkan. Berdasarkan Thiele et al (2019), risiko bahaya dari penggunaan KOH terhadap kesehatan manusia relatif rendah sehingga dapat menjamin segi keamanan dalam penerapannya. Penentuan larutan digesti yang tepat bagi kerang darah dilakukan berdasarkan informasi tentang kelebihan KOH 10% sebagai pelarut dalam proses digesti. Akan tetapi, kondisi digesti terkait suhu dan waktu tidak terlepas dari karakteristik setiap jaringan organisme laut sehingga diperlukan optimalisasi secara khusus bagi kerang darah agar seluruh komponen organik dapat hancur secara sempurna.

Variasi suhu dan waktu yang digunakan dalam optimalisasi digesti kerang darah dengan pelarut KOH 10% didasarkan atas penelitian Karami et al (2017). Kombinasi suhu dan waktu dipilih berdasarkan efektivitas digesti. Kombinasi yang terbaik adalah suhu terendah dan waktu digesti tersingkat untuk menghancurkan jaringan kerang darah, yang ditemukan pada suhu 50°C dalam kurun waktu 24 jam. Hal tersebut dicirikan

dengan larutan yang jernih dan mudah diamati dibawah mikroskop, sehingga ditetapkan sebagai kondisi digesti untuk penelitian utama.

4.2. Penelitian Utama

4.2.1. *Recovery* Standar Internal pada Sampel Kerang Darah

Menurut hasil pengamatan, *recovery rate* tertinggi hingga terendah adalah PS (102%), PVC (84%), PP (68%), dan PE (54%). *Recovery rate* merupakan perbandingan antara jumlah standar internal sebelum digesti dengan jumlah standar internal setelah digesti yang dinyatakan dalam persen. Urutan *recovery rate* $PS > PVC > PP > PE$ tersebut kemungkinan terkait dengan karakteristik fisik dan ketelitian pengukuran.

Urutan berbeda dilaporkan oleh Jin-Feng et al (2018) yang meneliti mikroplastik dalam kerang-kerangan di China, yaitu PP (98,6%), PE (98,3%), PS (97,7%), dan PVC (96,7%). Perbedaan tersebut dapat dijelaskan berdasarkan perbedaan satuan dari standar internal yang ditambahkan. Dalam penelitian ini, standar internal dinyatakan dalam satuan partikel, sementara Jin-Feng et al (2018) menggunakan satuan gram.

Standar internal PS mempunyai *recovery rate* tertinggi sebesar 102%. Angka tersebut kemungkinan diperoleh karena adanya partikel PS yang terurai selama digesti dan membentuk lebih dari 1 partikel baru. Munno et al (2017) menyebutkan bahwa selama digesti akan sangat mungkin terjadi degradasi pada plastik, sehingga partikel tunggal dapat dihitung lebih dari satu.

Tingginya *recovery rate* PS dan PVC dibandingkan dengan PP dan PE dapat disebabkan karena perbedaan ukuran dan warna yang dimiliki oleh setiap jenis standar internal pada penelitian ini. Berdasarkan ukuran, PS ($1222,6 \pm 216,4 \mu\text{m}$) dan PVC ($1249,1 \pm 241,4 \mu\text{m}$) cenderung lebih besar dibandingkan dengan PP ($1075,3 \pm 265,8 \mu\text{m}$) dan PE ($520,7 \pm 205,8 \mu\text{m}$). Berdasarkan warna, PS (putih) dan PVC (abu-abu kehitaman) mempunyai warna yang solid, sementara PP dan PE mempunyai warna yang transparan. Oleh sebab itu, PS dan PVC cenderung lebih kasat mata sehingga lebih mudah dikendalikan saat perpindahan wadah dibandingkan dengan PP dan PE. Akibatnya, jumlah partikel PS dan PVC yang ditemukan setelah digesti lebih tinggi

dibandingkan dengan PP dan PE sebagaimana berbanding lurus dengan *recovery rate*-nya.

4.2.2. Perubahan Ukuran Standar Internal pada Sampel Kerang Darah

Perubahan ukuran standar internal ditinjau dari 3 paramter yaitu panjang, keliling, dan luas baik sebelum dan setelah digesti. Berdasarkan hasil pengamatan, keempat jenis partikel mengalami perubahan ukuran, tetapi tidak signifikan berdasarkan uji statistik kecuali luas partikel PS.

Perbedaan rata-rata ukuran partikel antara sebelum dan setelah digesti kemungkinan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain degradasi partikel itu sendiri, pengukuran yang terbatas pada permukaan partikel, dan *recovery* yang tidak sempurna. Degradasi partikel selama digesti dapat terjadi sebagaimana dilaporkan oleh Munno et al (2017). Degradasi dapat menyebabkan perubahan bentuk, yang konsekuensinya dapat menyebabkan perubahan ukuran. Faktor lain yang kemungkinan berperan adalah pengukuran yang terbatas pada permukaan partikel (2 dimensi). Kelemahan dari pengukuran ini adalah tidak dimungkinkannya pengukuran partikel sebelum dan sesudah digesti secara akurat, karena partikel cenderung tidak dapat dipastikan posisinya selama proses analisis. Ketika tidak semua partikel dapat ditemukan kembali (*recovery*), maka nilai rata-rata ukuran partikel sebelum dan setelah digesti dapat sangat berbeda.

4.2.3. Konfirmasi Standar Internal pada Sampel Kerang Darah Setelah Digesti

Identifikasi standar internal ditujukan untuk memastikan bahwa setelah digesti, partikel mikroplastik (PE, PP, PS, PVC) tidak mengalami perubahan struktur kimia. Dalam proses identifikasi, digunakan *micro*-FTIR yang dapat mengidentifikasi jenis polimer melalui komparasi spektrum serapan inframerah sesuai dengan Tagg et al (2015). Prinsipnya, getaran molekul menginduksi serapan pada area inframerah. Pita serapan inilah yang digunakan dalam proses identifikasi, karena setiap pita spesifik memberikan informasi mengenai struktur kimianya (Sun, 2009).

Berdasarkan hasil pengamatan, keempat standar internal mempunyai tingkat kemiripan ≥ 800 dengan masing-masing jenis polimernya. Menurut Lusher et al (2013), tingkat kemiripan antara spektrum sampel dengan spektrum standar dari *database* polimer diatas 60% dapat dikonfirmasi sebagai jenis polimer tertentu. Oleh karenanya, keempat jenis polimer tidak mengalami perubahan struktur kimia akibat digesti. Sesuai dengan penelitian Dehaut et al (2016), perlakuan digesti dengan bahan kimia tidak berpengaruh terhadap hasil identifikasi polimer. Dehaut et al (2016) dan peneliti menggunakan pelarut dan waktu digesti yang sama yaitu KOH 10% selama 24 jam, dengan suhu berbeda yaitu 60°C. Sekalipun Dehaut et al (2016) menggunakan suhu yang lebih tinggi, spektrum sampel (termasuk PE, PP, PS, PVC) mempunyai *peak* yang relatif sama dengan spektrum standar, kecuali selulosa asetat. Sesuai dengan Kühn et al (2017), KOH dapat melarutkan komponen sintetis berjenis selulosa asetat.

4.2.4. Particle Suspected as Microplastics (PSM) dalam Kerang Darah

Berdasarkan hasil pengamatan, seluruh sampel kerang darah termasuk blanko mengandung PSM. Sesuai dengan studi Widianarko and Hantoro (2018), hampir seluruh populasi kerang darah (97-100%) yang didapat dari Pantai Semarang mengandung mikroplastik. Menurut Li et al (2015), kerang darah bersifat *filter feeder* non selektif. Oleh karena aktivitas *filter feeding* yang dimilikinya, semakin tinggi peluang paparan mikroplastik yang terdistribusi di dalam laut.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat 3 bentuk PSM yang ditemukan pada sampel yaitu *fragments*, *fibers*, dan *films*. Secara berurutan, bentuk yang paling banyak ditemukan pada sampel kerang darah dan blanko adalah *fibers* > *fragments* > *films*. Sesuai dengan hasil penelitian (Ding et al., 2018) yang menyatakan bahwa pada kelompok kerang-kerangan, 100% mikroplastik yang ditemukan berbentuk *fibers*. Mikroplastik berbentuk *fibers* dapat berasal dari tekstil yang masuk ke pembuangan limbah domestik. Akibatnya, benang-benang mikro terlepas dari pakaian dan mencemari perairan. Salah satu aktivitas yang diduga menjadi sumber utama limbah yang mengandung mikroplastik dalam bentuk *fibers* adalah usaha *laundry*.

Berdasarkan Tanaka and Takada (2016), PSM berbentuk *fragments* mempunyai karakteristik yang beragam. *Fragments* dapat berupa patahan dengan tepi yang tajam, namun juga dapat berbentuk bulat dengan permukaan yang halus ataupun kasar. Menurut Zhou et al (2018) bentuk *films* mempunyai ciri-ciri transparan dan tipis. Sumber mikroplastik berbentuk *fragments* dan *films* tidak dapat dikonfirmasi secara pasti. Hal ini bergantung pada ketersediaan plastik di lingkungan yang mengalami degradasi. Namun berdasarkan Zhou et al (2018), mikroplastik berbentuk *fragments* dan *films* dapat berasal dari kantong plastik yang rusak akibat proses degradasi.

Menurut hasil pengamatan, *fibers* mempunyai rata-rata ukuran terpanjang dengan kisaran 678,2-1069,9 μm . Dalam penelitian sejenis terhadap kerang-kerangan di China (Jin-Feng et al., 2018) juga ditemukan bahwa bentuk *fibers* adalah mikroplastik dengan ukuran terpanjang sekitar 700 μm .

4.2.5. Implikasi Toksikologis dan Keamanan Pangan

Perubahan ukuran (luas) yang semakin mengecil pada standar internal PS menandakan bahwa PS terdegradasi akibat digesti. Menurut Thaysen et al (2018), PS terbentuk dari senyawa kimia yang berbahaya yaitu *styrene* yang dapat terserap oleh jaringan. Apabila *styrene* mengalami metabolisme di dalam tubuh manusia, akan terbentuk *styrene oxide* yang dapat terikat secara kimia pada DNA. Hal ini dapat menyebabkan mutasi yang mengarah pada karsinogenesis, juga berpengaruh terhadap hormon estrogen (Farrelly and Shaw, 2017). Oleh karena itu, PS mungkin menjadi sangat berbahaya apabila terjadi *leaching* senyawa kimia yang diteruskan pada lingkungan dan atau makanan, secara khusus *seafood*.

Aktivitas *filter-feeding* kerang darah dapat memperbesar peluang paparan mikroplastik yang terdistribusi di dalam laut (Li et al., 2015). PSM yang paling banyak ditemukan pada kerang darah berbentuk *fibers*, akan tetapi semua bentuk (*fibers*, *fragments*, *films*) mempunyai risiko terhadap keamanan pangan. Risiko kontaminasi oleh mikroplastik dapat disebabkan karena, (1) senyawa kimia beracun yang menempel di permukaan, (2) senyawa penyusun plastik itu sendiri, (3) mikroplastik sebagai partikel (Widianarko and Hantoro, 2018).

Mikroplastik berbentuk *fibers* mayoritas berasal dari jenis polimer nilon, polietilen tereftalat (polyester, PET), dan PP (Cole, 2017). Menurut Tanaka & Takada (2016), bentuk *fragments* berasal dari jenis polimer PE dan PP. Seluruh jenis polimer telah mengalami penambahan zat aditif dalam proses pembuatannya, termasuk *plasticizers*, *flame retardants*, pigmen, dan penstabil panas. Saat pertama kali polimer diproduksi, plastik bersifat non toksik karena ukurannya yang besar menyebabkan partikel tidak dapat menembus membran biologis. Akan tetapi, degradasi polimer dapat memperbesar area permukaan partikel sehingga memungkinkan terjadinya *leaching*. Selain itu, polimer mikroplastik juga dapat mengakumulasi *persistent organic pollutants* (POPs) seperti *polychlorinated biphenyls* (PCBs), *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAHs), dan *hexachlorobenzene* (HCB) dari perairan. Hal ini dikarenakan POPs memiliki afinitas yang lebih besar terhadap plastik dibandingkan dengan air (Smith et al., 2018). Oleh sebab itu, mikroplastik menjadi berbahaya apabila terdistribusi di dalam jaringan organisme laut melalui rantai makanan.

Atas bahaya yang ditimbulkan akibat keberadaan mikroplastik pada *seafood*, diperlukan data yang valid untuk mendukung evaluasi risiko. Selama ini, analisis mikroplastik hanya berfokus pada temuan fisik PSM tanpa menjamin bahwa partikel yang ditemukan benar-benar plastik. Dengan adanya pengukuran standar internal, dihasilkan data yang dapat menunjang penjaminan mutu. Data yang dimaksud adalah *recovery rate* dan perubahan ukuran untuk mengetahui kemungkinan yang terjadi akibat perlakuan digesti, serta tingkat kemiripan suatu partikel terhadap jenis polimernya. Proses analisis yang baik ditandai dengan *recovery* yang tinggi tanpa perubahan ukuran dan struktur kimia yang berarti. Dengan hasil pengukuran yang akurat, maka evaluasi risiko keamanan pangan juga lebih dapat dipertanggung jawabkan. Sesuai dengan Rauf and Hanan (2009), penjaminan mutu dalam analisis kimia menjadi penting untuk memastikan bahwa seluruh kriteria kualitas terpenuhi, termasuk performa prosedur analisis.