1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Meningkatnya kesadaran tentang nilai penting persoalan mikroplastik telah mendorong studi ilmiah tentang mikroplastik berkembang pesat dalam lima tahun terakhir. Namun, hingga saat ini mikroplastik belum dapat dikuantifikasi secara valid. Hal ini dikarenakan variasi metode pengambilan sampel, ekstraksi, deteksi, kuantifikasi, dan identifikasi serta penjaminan mutu analisis masih menjadi hambatan untuk mendapatkan hasil yang valid. Metode yang bervariasi menimbulkan kesulitan dalam memperbandingkan hasil studi mikroplastik, sehingga tidak memungkinkan untuk melakukan analisis risiko (Müller *et al.*, 2019). Sebagian besar studi menekankan pentingnya standarisasi metode analisis mikroplastik untuk mendapatkan data yang valid dan dapat diandalkan (Catarino *et al.*, 2016; Griet *et al.*, 2015). Validitas dan keterandalan data sangat dibutuhkan untuk dapat melakukan *risk assessment* mikroplastik (Hantoro *et al.*, 2019).

Metode deteksi dan identifikasi mikroplastik yang paling umum digunakan merupakan spektroskopi *fourier transform infrared* (FTIR), spektroskopi Raman, dan *pyrolysis gas chromatography mass spectrometry* (Pyr-GC/MS), dan kromatografi cair (He *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2021; Q. Zhang *et al.*, 2020). Metode spektroskopi (FTIR dan Raman) merupakan dua metode yang paling populer untuk identifikasi mikroplastik karena telah digunakan dalam 142 studi mikroplastik dari 188 artikel penelitian (Lu *et al.*, 2021). Spektroskopi FTIR dan Raman mengidentifikasi partikel mikroplastik melalui spektrum getarannya yang unik untuk setiap jenis polimer sehingga dapat dimasukkan ke dalam pengaturan mikroskopis yang memungkinkan pencitraan kimia (Xu *et al.*, 2019).

Metode spektroskopi FTIR menghasilkan kemampuan pendeteksian dan pengidentifikasian mikroplastik yang jauh lebih maju (Hale *et al.*, 2020; Wang & Wang, 2018). Hal ini dikarenakan spektroskopi inframerah memungkinkan batas deteksi mikroplastik hingga 5-10 µm (Mintenig *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2021). Metode spektroskopi FTIR dapat dikelompokkan menjadi beberapa jenis seperti, *attenuated total reflectance* FTIR (ATR-FTIR), mikro-FTIR (µ- FTIR), dan *focal plane array* FTIR (FPA-FTIR).

Metode spektroskopi mikro-FTIR merupakan metode dengan sinar infra merah yang banyak digunakan untuk deteksi dan identifikasi jenis polimer mikroplastik. Hal ini dikarenakan mikro-FTIR memiliki keunggulan yaitu setiap polimer memiliki spektrum sidik jari (*fingerprints*) yang dapat dibedakan dari bahan alami. Namun, mikro-FTIR juga memiliki kelemahan yaitu akurasi yang rendah untuk mengidentifikasi mikroplastik yang berukuran sangat kecil (<10 µm) dan partikel yang diduga mikroplastik harus dipilih secara visual oleh operator yang dapat menimbulkan bias dalam analisis. Selain itu, partikel transparan atau tembus cahaya serta partikel yang sangat kecil mungkin terlewatkan selama pemilihan awal (Primpke *et al.*, 2017).

Metode spektroskopi ATR-FTIR merupakan metode yang umum digunakan untuk mendeteksi dan identifikasi mikroplastik (Veerasingam *et al.*, 2020). Namun, metode spektroskopi ATR-FTIR mengukur sampel secara individu (*point analysis*), sehingga memakan waktu yang sangat lama (*time consuming*) untuk menganalisis partikel dari satu sampel, terutama apabila temuan partikel yang diduga mikroplastik sangat banyak. Selain itu, metode spektroskopi ATR-FTIR juga membutuhkan *probe* untuk melakukan kontak dan tekanan dengan target sampel sehingga dapat berpotensi merusak dan menyebabkan hilangnya mikroplastik (Yang *et al.*, 2021). Tantangan lain pada metode ATR-FTIR juga terdapat peluang terjadinya tumpang tindih antar mikroplastik sehingga menyebabkan sinyal yang terbaca kurang akurat (Santos *et al.*, 2020).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil deteksi dan identifikasi mikroplastik menggunakan mikro-FTIR adalah *aperture* dan jumlah pemindaian. *Aperture* berperan besar dalam pengambilan gambar dikarenakan sampel mikroplastik tidak sepenuhnya datar, sehingga sulit untuk fokus pada keseluruhan gambar. Oleh sebab itu, *aperture* harus diatur agar dapat mendeteksi mikroplastik secara jelas dari area yang kabur (Vongsvivut *et al.*, 2019). Jumlah pemindaian sangat berpengaruh dikarenakan sebagian besar waktu pemindaian akan terbuang sia-sia apabila pengukuran spektrum terjadi pada tempat yang sama dan partikel yang lebih kecil dapat berisiko terabaikan (Xu *et al.*, 2019).

Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menetapkan nilai optimum dua faktor, yaitu *aperture* dan jumlah pemindaian yang dapat mempengaruhi akurasi hasil

deteksi dan identifikasi mikroplastik dengan menggunakan mikro-FTIR berbasis pendekatan *mapping*. Pendekatan ini digunakan untuk memastikan bahwa tidak ada partikel yang terlewat saat analisis (Primpke *et al.*, 2017; Renner *et al.*, 2020). Detektor yang digunakan merupakan *mercury cadmium telluride* (MCT) yang memiliki kelebihan yaitu sangat cocok untuk sistem material yang memiliki panjang gelombang inframerah, seperti FTIR (Ciani *et al.*, 2020). Dengan demikian, proses deteksi dan identifikasi mikroplastik dapat menjadi lebih akurat dan lebih cepat. Penelitian ini menawarkan satu kebaruan (*novelty*) yaitu metode yang baru dan inovatif dalam optimasi deteksi dan identifikasi mikroplastik berbasis mikro-FTIR dengan pendekatan *mapping*. Optimasi dan standarisasi metode deteksi dan identifikasi menggunakan mikro-FTIR berbasis pendekatan *mapping* ini sangat diperlukan pada analisis mikroplastik untuk hasil laut yang memiliki matriks yang kompleks.

1.2. Tinjauan Pustaka

1.2.1. Plastik

Sejak awal 1940-an, ketika produksi plastik besar-besaran dimulai, hingga 2015, diperkirakan lebih dari 400 juta ton plastik telah diproduksi secara global dengan penyumbang terbesar berasal dari sektor industri kemasan (Rabnawaz *et al.*, 2017). Plastik didefinisikan sebagai polimer sintetik yang berasal dari reaksi polimerisasi monomer yang diekstraksi dari gas atau minyak. Plastik memiliki sifat yang inert, tahan lama, tahan korosi, dan ringan (Laser, 2011).

Plastik dapat dikategorikan menjadi 4 kelompok utama yaitu, elastomer, termoset, termoplastik, dan *compounds*. Keempat kategori plastik ini dapat dibedakan berdasarkan struktur makromolekulnya. Elastomer memiliki elastisitas lunak dan resinnya tidak dapat dilebur untuk tujuan daur ulang. Termoset memiliki elastisitas keras dan resinnya tidak dapat dilebur untuk tujuan daur ulang. Termoplastik merupakan *amorf* atau semi-kristal. Resin *amorf* memiliki makromolekul yang tidak teratur, sedangkan resin semi-kristal memiliki makromolekul yang teratur. Contoh dari resin *amorf* adalah polikarbonat (PC), polistiren (PS), polivinilklorida (PVC), polimetilmetacrylate (PMMA), dan polisulphone (PSU). Sedangkan, contoh dari resin semi-kristal adalah poliamida (PA), polietilen (PE),

polietilen terephatalate (PET), polioximetilen (POM), polipropilen (PP), polifenilsulphone (PPS), dan polivinildenfluoride (PVDF) (Laser, 2011).

1.2.2. Mikroplastik

Mikroplastik merupakan hasil degradasi plastik yang memiliki ukuran 1 μm hingga 5 mm. Besarnya *range* definisi ukuran mikroplastik dapat menimbulkan kesulitan untuk memperbandingkan studi mikroplastik. Oleh sebab itu, muncul rekomendasi untuk melaporkan data mikroplastik dalam tiga kelas ukuran, yaitu 1 hingga ≤ 100 μm; 100 hingga ≤ 350 μm; dan 350 μm hingga ≤5 mm (Frias & Nash, 2019). Mikroplastik dapat dikelompokkan menjadi beberapa bentuk yaitu: (1) *pellet*, (2) *fragmen*, (3) *fiber*, (4) *film*, (5) *filament*, (6) *microbead*, dan (7) busa/*spons* (Gago *et al.*, 2019).

Mikroplastik dapat berasal dari sumber primer yang merupakan plastik yang sengaja dibuat dalam ukuran sangat kecil, seperti *microbeads* pada produk kosmetik yang berupa *scrub*, partikel nano yang sering digunakan pada berbagai macam industri (seperti industri kimia dan tekstil), dan bubuk plastik untuk cetakan. Selain itu, mikroplastik juga dapat berasal dari sumber sekunder yang merupakan hasil degradasi, fragmentasi, dan pengecilan ukuran plastik, seperti hasil dari kerusakan selama proses produksi tekstil dan proses degradasi oleh radiasi sinar ultraviolet (EFSA, 2016).

Sampah plastik yang mencemari lingkungan dapat terdegradasi membentuk mikroplastik. Pencemaran mikroplastik di perairan pantai dan laut dari seluruh penjuru dunia telah banyak didokumentasikan, baik pada sampel air (Chae *et al.*, 2015; Syakti *et al.*, 2017; Van Cauwenberghe *et al.*, 2015) dan sedimen (Falahudin *et al.*, 2020; Khoironi *et al.*, 2020; Kunz *et al.*, 2016; Leslie *et al.*, 2017). Banyak studi juga telah mendeteksi kontaminasi mikroplastik pada berbagai spesies hasil laut yang dikonsumsi manusia, seperti ikan (Wagner *et al.*, 2017), kelompok bivalvia (Li *et al.*, 2016), kepiting (Wójcik-Fudalewska *et al.*, 2016), dan udang (Devriese *et al.*, 2015).

Mikroplastik dapat terakumulasi dalam habitat dan organisme laut melalui empat jalur. Pertama merupakan hasil pengecilan ukuran dari plastik besar akibat degradasi dari sinar ultraviolet, tekanan fisik dari air laut, dan aktivitas dari makhluk hidup di laut. Kedua

merupakan mikroplastik yang secara tidak sengaja hilang dalam proses pengolahannya (bentuk pelet atau bubuk) dalam proses transportasi di laut atau air permukaan. Ketiga merupakan mikroplastik yang terbawa melalui limbah cair rumah tangga. Keempat merupakan mikroplastik yang berasal dari hasil pengolahan limbah yang dibuang ke lingkungan seperti lumpur sisa pengolahan (GESAMP, 2010).

Distribusi mikroplastik juga dipengaruhi oleh adanya perbedaan jenis polimer. Salah satu karakteristik pembeda jenis polimer adalah densitas polimer. Apabila densitas polimer rendah, maka plastik tersebut akan berada di permukaan. Tetapi, apabila densitas polimer tinggi, maka plastik tersebut akan tenggelam ke dasar laut. Pengelompokan polimer plastik berdasarkan densitas dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Densitas Berbagai Jenis Polimer

Jenis Polimer	Densitas (g/cm^3)
polyethylene (PE)	0,917 – 0,965
polypropylene (PP)	0,9 – 0,91
polystyrene (PS)	1,04 – 1,1
polyamide (nylon)	1,02 – 1,05
polyester	1,24 – 2,3
acrylic	1,09 – 1,2
polyoximetylene	1,41 – 1,61
polyvinyl alcohol	1,19 – 1,31
polyvinyl chloride (PVC)	1,16 – 1,58
poly methylacylate	1,17 – 1,2
polyethylene terephthalate (PET)	1,37 – 1,45
alkyd	1,24 – 2,1
polyurethane	1,2

(Hidalgo-Ruz *et al.*, 2012)

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa mikroplastik dapat masuk dan terakumulasi dalam rantai makanan (*trophic transfer*) (Miliou *et al.*, 2016). Beberapa eksperimen *in vitro* laboratorium mengungkapkan bahwa mikroplastik terkonsentrasi di biota yang berada pada tingkat trofik yang lebih tinggi di rantai makanan (Farrell & Nelson, 2013; Santana *et al.*, 2017; Tosetto *et al.*, 2017) Fakta tersebut menunjukkan bahwa mikroplastik sangat mungkin tertelan oleh manusia melalui konsumsi hasil laut.

1.2.3. Analisis Mikroplastik dan Masalah Standarisasi

Mikroplastik yang mengontaminasi hasil laut dan berbagai produk pangan lain memberikan potensi risiko pada kesehatan manusia melalui aktivitas konsumsi (Toussaint *et al.*, 2019). Namun, informasi mengenai potensi risiko mikroplastik terhadap kesehatan manusia dan tingkat paparan mikroplastik pada manusia masih belum diketahui dengan jelas. Hingga saat ini, analisis risiko keamanan pangan untuk mikroplastik belum dapat dilakukan karena mikroplastik sebagai *novel contaminant* belum dapat dikuantifikasi secara valid.

Berkembangnya penelitian mengenai temuan mikroplastik pada sampel dari lingkungan maupun biota laut, masih menghadapi permasalahan validitas hasil penelitian karena belum adanya standarisasi pada metode ekstraksi, deteksi, dan identifikasi (Miller *et al.*, 2016). Metode yang beragam ini menimbulkan kesulitan dalam perbandingan hasil studi mikroplastik, sehingga risiko mikroplastik tidak dapat dievaluasi dengan akurat (Müller *et al.*, 2019). Oleh karena itu, pengembangan protokol yang selaras dan dapat diandalkan, termasuk pengambilan sampel, penanganan sampel, serta metodologi deteksi, diperlukan untuk akurasi data (Catarino *et al.*, 2018). Hasil pengukuran yang akurat dari metode yang standar akan memungkinkan untuk melakukan analisis risiko berdasarkan potensi paparan mikroplastik.

Metode untuk penelitian kuantitatif dan kualitatif mikroplastik termasuk kromatografi gas pirolisis yang digabungkan dengan spektrometri massa (Nuelle *et al.*, 2014), spektroskopi Raman (Sun *et al.*, 2017), spektroskopi FTIR-infrared (Qiu *et al.*, 2016), kromatografi cair (Wesch *et al.*, 2017). Setiap metode analisis untuk mendeteksi dan mengidentifikasi memiliki keterbatasan masing-masing. Rangkuman metode analisis mikroplastik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rangkuman Metode Analisis Mikroplastik

Metode		Prinsip Kerja	Ukuran Partikel	Keuntungan	Kekurangan
Metode Visual	Perhitungan Mikroskopis	Sampel diberi *pretreatment* lalu langsung dihitung dengan mikroskop.	Kisaran mikrometer (µm) dapat dianalisis dengan mikroskop stereomik.	• Sampel dengan jumlah mikroplastik yang tinggi dapat diidentifikasi dengan cepat dan dengan biaya rendah.	• Detail sifat sampel tidak dapat ditentukan.
Metode Spektroskopi	FTIR	Sampel diberi radiasi sinar *infrared* (IR) dengan getaran yang bergantung pada komposisi dan struktur molekuler.	Ukuran partikel > 500 µm dapat dianalisis dengan ATR-FTIR. Ukuran partikel < 20 mm dapat dianalisis dengan mikroskop digabungkan FTIR.	• Non destruktif. • Cepat dan dapat diandalkan. • Sangat memungkinkan untuk ribuan file spektrum dalam suatu area melalui satu pengukuran dan analisis.	• Sampel < 20 µm mungkin tidak menghasilkan absorbansi yang dapat ditafsirkan. • Sampel non transparan sulit untuk dianalisis. • Alat analisis mahal. • Butuh personel yang berpengalaman untuk mengoperasikan. • Deteksi dipengaruhi oleh lingkungan (misalnya, pembentukan biofilm pada polimer). • Sampel harus diolah terlebih dahulu untuk menghilangkan air aktif IR

Tabel 2. (Lanjutan)

Metode		Prinsip Kerja	Ukuran Partikel	Keuntungan	Kekurangan
	Spektroskopi Raman	Interaksi dari radiasi sinar laser dengan molekul dan atom sampel.	Ukuran partikel > 1 µm. Satu-satunya metode yang bisa untuk ukuran partikel 1 - 20 µm.	• Cocok untuk partikel kecil dengan resolusi tinggi. • Sensitivitas relatif rendah terhadap air. • Bisa untuk partikel yang tidak transparan dan gelap.	• Adanya gangguan besar dari fluoresensi dari biologis, organik, dan anorganik. • Sampel butuh pemurnian. • Pemetaan otomatis masih dalam pengembangan. • Butuh waktu lama.
	Spektroskopi Pemindaian Elektron	Interaksi berkas elektron dengan sampel untuk mengukur ion sekunder.	Ukuran partikel hingga skala mikro.	• Resolusi gambar sampel tinggi.	• Sampel perlu dilapisi vakum tinggi. • Detail sifat sampel tidak dapat ditentukan.
Metode Kromatografi	*Thermo-analytical* (GC/MS)	Sampel diolah secara termal dalam kondisi ambien. Gas yang dilepaskan senyawa akan terperangkap dan dipindahkan ke kolom GC yang digabungkan dengan quadrupole MS.	Ukuran > 500 µm.	• Sampel dapat dianalisis bersama dengan zat organic dalam sekali jalan tanpa menggunakan pelarut. • Sensitif dan dapat diandalkan.	• Hanya satu partikel yang dapat dianalisis per *run*. • Database hanya untuk polimer tertentu (PE dan PP).

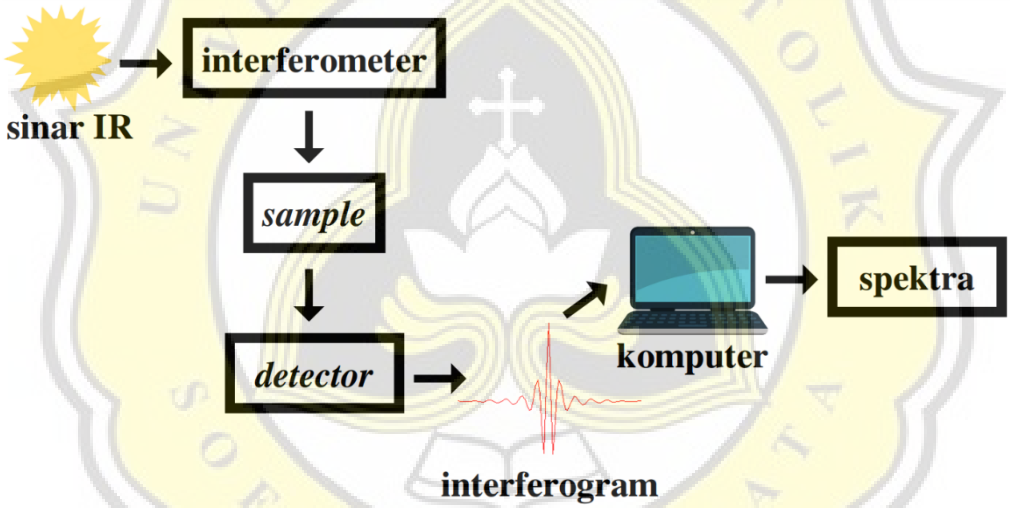
Tabel 2. (Lanjutan)

Metode		Prinsip Kerja	Ukuran Partikel	Keuntungan	Kekurangan
	Kromatografi Cair	Sampel dilarutkan dengan pelarut. Perbedaan massa molar diukur dengan kromatografi dan kuantifikasi dengan HPLC.	Ukuran sampel harus miligram diperlukan untuk ekstraksi kimiawi.	• Pemulihan polimer tinggi.	• Ketidakmampuan untuk menentukan karakteristik fisik (ukuran). • Hanya bisa untuk sejumlah kecil sampel per *run*. • Hanya spesifik untuk polimer PS dan PET.
Metode Lain	Metode *Tagging*	Pewarna hidrofobik akan terserap ke permukaan mikroplastik dan membuatnya berpendar saat diradiasi dengan cahaya biru.	Ukuran dengan skala mikro.	• Sangat mudah. • Biaya rendah. • Partikel fluoresen bisa diidentifikasi.	• Partikel lain seperti zat organik mungkin ternoda oleh pewarna sehingga menyebabkan perkiraan mikroplastik yang berlebihan.

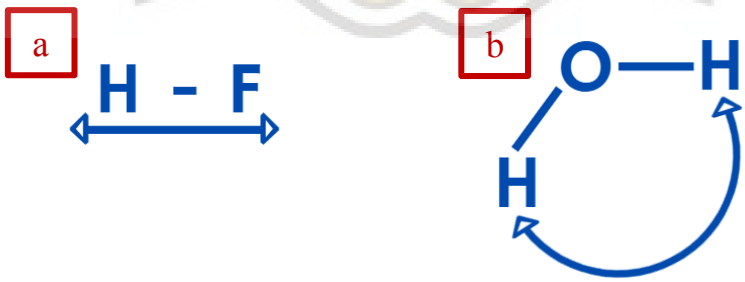
Sumber : (Jingyi Li *et al.*, 2018; Yang *et al*., 2021)

1.2.4. Deteksi dan Identifikasi Mikrosplastik Menggunakan Mikro-FTIR *Mapping*

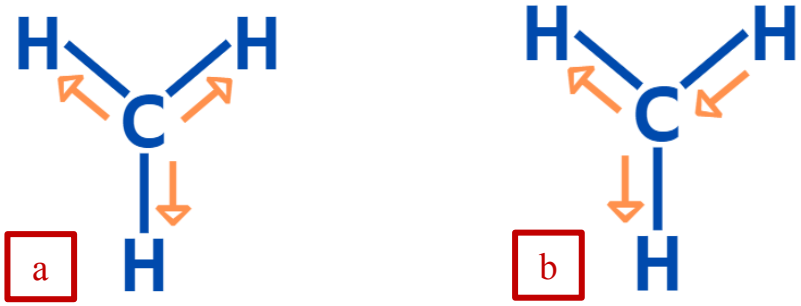
FTIR merupakan suatu alat untuk menganalisa keberadaan suatu senyawa berdasarkan kekuatan penyerapan/absorbansi senyawa pada panjang gelombang tertentu (Gambar 1.). Prinsip kerja FTIR adalah dengan melewatkan sinar inframerah pada sampel melalui interferometer. Sinar inframerah yang terserap oleh sampel akan menghasilkan berbagai mode getaran atau yang biasa disebut interferogram (Gambar 2.) yang berbentuk spektra yang akan dibaca oleh komputer. Penyerapan ini berkaitan dengan sifat ikatan dalam molekul sampel. Terdapat dua mode getaran (Gambar 2.) dalam molekul yaitu *stretching* (*symmetric* dan *asymmetric*) (Gambar 3.) dan *bending* (*wagging, rocking, twisting*, dan *scissoring*) (Gambar 4.). Mode getaran *stretching* umumnya terjadi pada energi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan mode getaran *bending* (Khan *et al*., 2018).



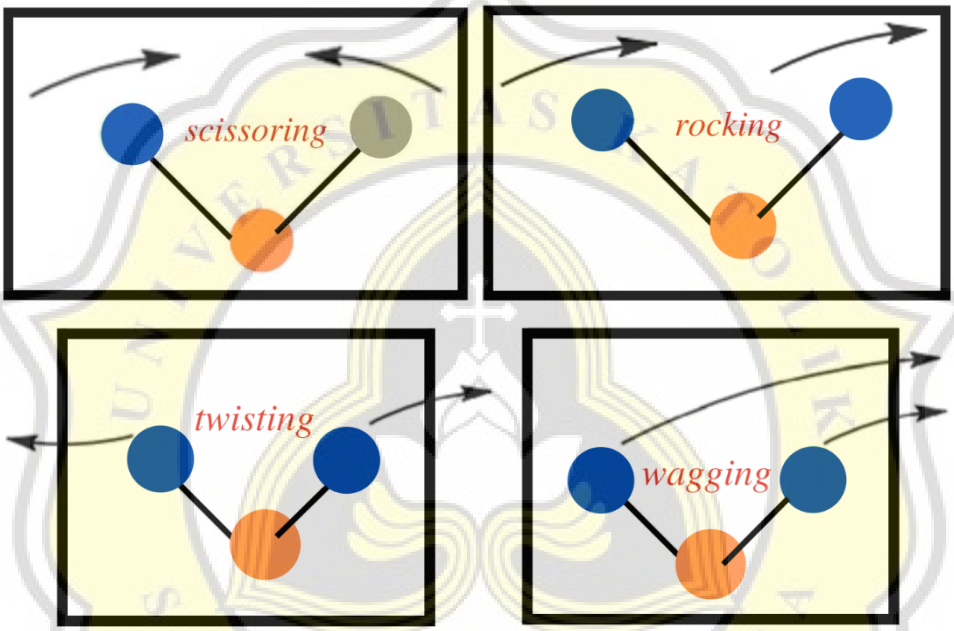
Gambar 1. Alat FTIR
(Sumber : Mohamed *et al*., 2017)



Gambar 2. Mode Getaran Pada Molekul di FTIR, *stretching* (a); *bending* (b)
(Sumber : Khan *et al*., 2018)



Gambar 3. Mode Getaran *Stretching*, *symmetric* (a); *asymmetric* (b)
(Sumber : Khan *et al.*, 2018)



Gambar 4. Mode Getaran *Bending*
(Sumber : Khan *et al.*, 2018)

Pada FTIR, spektra diukur sebagai bilangan gelombang karena bilangan gelombang berhubungan langsung dengan energi dan frekuensi, sehingga memberikan sinyal yang mudah untuk menginterpretasikan spektra. Spektra yang dihasilkan akan dicocokan dengan perpustakaan spektra yang terdapat dalam FTIR, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi jenis polimer melalui sidik jari sampel (Tabel 3.) dengan puncak serapan sesuai dengan mode getaran antara ikatan atom-atom penyusun sampel. Hal ini dikarenakan setiap bahan polimer memiliki kombinasi atom yang unik, tidak ada polimer yang menghasilkan spektra inframerah yang persis sama. Oleh sebab itu, FTIR dapat dengan mudah digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam suatu molekul sampel (Khan *et al.*, 2018).

Spektra FTIR untuk mikroplastik dapat dibagi menjadi tiga wilayah yaitu : (1) 4000-2750 cm^{-1}, (2) 2750-1850 cm^{-1}, dan 1850-700 cm^{-1}. Dalam spektra FTIR mikroplastik, tidak setiap wilayah spektra mengandung informasi yang relevan (Renner *et al*., 2019). Oleh sebab itu, spektra dapat direduksi menjadi sub-spektra yang lebih kompak dan berkarakteristik tinggi sehingga dapat meningkatkan selektivitas pencarian perpustakaan (Hendrickson *et al.*, 2018; Käppler *et al.*, 2015; Kroon *et al.*, 2018). Berdasarkan penelitian Renner *et al.* (2019), ditemukan bahwa intensitas dan spesifisitas (sinyal polimer) sangat tinggi di wilayah spektra 1850–700 cm^{-1}.

Pada umumnya, terdapat dua detektor yang umum digunakan pada FTIR yaitu *deuterated triglycine sulfate* (DTGS) dan *mercury cadmium telluride* (MCT). Detektor DTGS merupakan detektor piroelektrik yang beroperasi dengan mendeteksi perubahan suhu pada bahan penyerap. Detektor MCT merupakan detektor foton (atau kuantum) yang bergantung pada sifat kuantum radiasi atau interaksi antara radiasi dan elektron dalam zat padat. Detektor MCT lebih sensitif apabila dibandingkan dengan detektor DTGS, tetapi harus didinginkan (77 K) menggunakan nitrogen cair untuk menghilangkan kebisingan termal, sedangkan detektor DTGS beroperasi pada suhu kamar (Alvarez-Ordóñez & Prieto, 2012). Selain itu, detektor MCT memiliki kelebihan yaitu sangat cocok untuk sistem material yang memiliki panjang gelombang inframerah, seperti FTIR (Ciani *et al.*, 2020). Dengan demikian, proses deteksi dan identifikasi mikroplastik dapat menjadi lebih akurat dan lebih cepat.

Tabel 3. Sidik Jari Polimer Pada FTIR

Jenis Polimer	Puncak Spektrum (cm^{-1})	Gugus Fungsi	Sumber
High density polyethylene (HDPE)	2915; 2845 1472; 1462 730; 717	C-H *stretching* CH_2 *bending* CH_2 *rocking*	(Asensio *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2018; Lobo & Bonilla, 2003; Mecozzi *et al.*, 2016; Noda *et al.*, 2007)
Low density polyethylene (LDPE)	2915; 2845 1467; 1462; 1377 730; 717	C-H *stretching* CH_2 *bending* CH_2 *rocking*	(Asensio *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2018; Lobo & Bonilla, 2003; Mecozzi *et al.*, 2016; Noda *et al.*, 2007)
Polyethylene terephthalate (PET)	1713 1241; 1094 720	C=O *stretching* C-O *stretching* *Aromatic* C-H *out of plane bending*	(Asensio *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2018; Mecozzi *et al.*, 2016; Noda *et al.*, 2007)
PA	3298 2932; 2858 1650; 1634 1530; 1274 1464; 1372; 1199 1220	N-H stretching C-H *stretching* C=O *stretching* N-H *bending*; C-N *stretching* CH_2 *bending* C-O-C	(Hsiao & Huang, 2002; Jung *et al.*, 2018; Lobo & Bonilla, 2003)
PS	3110-3000; 1601-1493; 757 2923; 2850 1451 1027 967 694 537	*Aromatic* C-H *stretching* C-H *stretching reflects* CH_2 *bending* *Aromatic* C-H *bending* C=C *Aromatic* C-H *out of plane bending* *Aromatic ring out of plane bending*	(Ashraf, 2014; Asensio *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2018; Lobo & Bonilla, 2003; Mecozzi *et al.*, 2016; Noda *et al.*, 2007)

Tabel 3. (Lanjutan)

Jenis Polimer	Puncak Spektrum (cm^{-1})	Gugus Fungsi	Sumber
PP	2952	CH_3 *symmetric*	(Asensio *et al*., 2009; Gopanna *et al*., 2019; Jung *et al*., 2018; Lobo & Bonilla, 2003; Mecozzi *et al*., 2016; Noda *et al*., 2007)
	2917	CH_2 *asymmetric*	
	2838; 1455	CH_2 *symmetric*	
	1375	C-CH_3 *symmetric*	
	1165; 997; 972	C-CH_3 *rocking*	
	840	C-CH_3 *stretching*	
PVC	1435; 1427	CH_2 *scissors*	(Jung *et al*., 2018; Lobo & Bonilla, 2003; Noda *et al*., 2007)
	1331; 1255	C-H *bending*	
	1099	C-C *stretching*	
	966	CH_2 *rocking*	
	700	C-Cl *stretching*	
PU	2865	C-H *stretching*	(Jung *et al*., 2018; Noda *et al*., 2007)
	1731	C=O *stretching*	
	1531	C-N *stretching*	
	1451	CH_2 *bending*	
	1223	C(=O)O *stretching*	
Latex	2960; 2920; 2855	C-H *stretching*	(Jung *et al*., 2018)
	1167	C=C *stretching*	
	1447	CH_2 *bending*	
	1367	CH_3 *bending*	
Polycarbonate (PC)	2966	C-H *stretching*	(Asensio *et al*., 2009; Jung *et al*., 2018; Noda *et al*., 2007)
	1768	C=O *stretching*	
	1503; 1409	*Aromatic ring stretching*	
	1364	CH_3 *bending*	
	1186; 1158	C-O *stretching*	
	1013	*Aromatic* C-H *in plane bending*	
	828	*Aromatic* C-H *out of plane bending*	

Tabel 3. (Lanjutan)

Jenis Polimer	Puncak Spektrum (cm^{-1})	Gugus Fungsi	Sumber
Acrylonitrile butadiene styrene (ABS)	2922	C-H *stretching*	(Jung *et al.*, 2018)
	1602; 1494	*Aromatic ring stretching*	
	1452	CH_2 *bending*	
	966	=C-H *bending*	
	759	*Aromatic* C-H *out of plane bending*, =C-H *bending*	
	698	*Aromatic* C-H *out of plane bending*	
Polytetrafluorethylene (PTFE)	1201; 1147	CF_2 *stretching*	(Jung *et al.*, 2018)
	638	C-C-F *bending*	
	554; 509	CF_2 *bending*	
Poly(*methyl methacrylate*) (PMMA atau *acrylic*)	2992; 2949	C-H *stretching*	(Jung *et al.*, 2018)
	1721	C=O *stretching*	
	1433	CH_2 *bending*	
	1386	CH_3 *bending*	
	1238; 1141	C-O *stretching*	
	1189; 985	CH_3 *rocking*	
	964	C-H *bending*	
	750	CH_2 *rocking*, C=O *bending*	
Nitrile	2917; 2849	=C-H *stretching*	(Jung *et al.*, 2018)
	2237	CN *stretching*	
	1605	C=C *stretching*	
	1440; 1360; 1197	CH_2 *bending*	
	967	=C-H *bending*	

1.2.5. Faktor yang Mempengaruhi Spektra Pada Mikro-FTIR Berbasis *Mapping*

Mikro-FTIR berbasis *mapping* merupakan metode yang masih cenderung baru dan sedang berkembang. Penelitian masih terus dilakukan untuk dapat mendapatkan hasil spektra yang andal dan dapat direproduksi untuk membandingkan heterogenitas antara sampel yang berbeda. Oleh sebab itu, beberapa faktor yang perlu distandarisasi untuk penelitian mikro-FTIR berbasis *mapping* merupakan *aperture*, resolusi, dan jumlah pemindaian (Gasaway *et al.*, 2017).

Aperture merupakan bukaan diafragma yang menentukan ukuran dan bentuk sinar inframerah menuju sampel. Selain itu, *aperture* juga berfungsi sebagai penghalang cahaya yang menyimpang sehingga sinar inframerah dapat tepat mengenai sampel (Smith, 2011). Ukuran *aperture* yang terlalu kecil dapat menyebabkan intensitas sinar inframerah dan difraksi meningkatkan. Selain itu, penggunaan *aperture* yang kecil juga dapat menurunkan kecerahan (yaitu kerapatan fluks foton rendah) sehingga menghasilkan rasio *signal-to-noise* (S/N) yang rendah dan kualitas spektra juga akan buruk (Vongsvivut *et al.*, 2019). Pada penelitian Chen *et al.*, (2012), penggunaan *aperture* terkecil yang digunakan untuk analisis merupakan 25x25 µm. Selain itu, penggunaan *aperture* di bawah 10x10 µm dapat menghasilkan spektra yang kurang baik (Wellner, 2013).

Jumlah pemindaian merupakan jumlah pergerakan cermin untuk mengukur interferogram menggunakan interferometer Michelson. Interferogram yang terukur saat pemindaian merupakan *fourier* yang ditransformasikan menuju sampel untuk menghasilkan spektra. Jumlah pergerakan cermin akan digerakan sesuai dengan jumlah pemindaian yang ditentukan oleh peneliti dan hasil spektra merupakan hasil spektra rata-rata (Smith, 2011).

Pada mikro-FTIR, spektra yang dihasilkan juga bergantung pada sudut datang, indeks bias sampel, sifat penyerapan, dan morfologi permukaan sampel. Umumnya, terdapat 2 mode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel mikroplastik yaitu reflektansi dan transmisi. Mode yang biasanya digunakan merupakan mode reflektansi karena dapat meminimalisir persiapan sampel (Larkin, 2011).

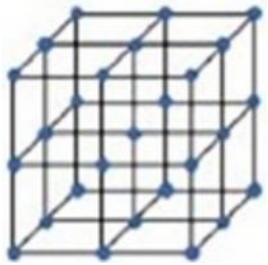
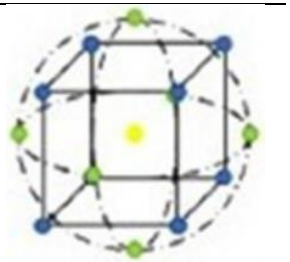
1.2.6. *Response Surface Methodology* (RSM)

RSM merupakan jenis desain eksperimental yang dapat digambarkan sebagai kumpulan teknik matematika dan statistik untuk merancang eksperimen, mengembangkan model, dan meningkatkan serta mengoptimalkan proses (Behbahani *et al.*, 2011; Farombi *et al.*, 2018; Talluri *et al.*, 2019). RSM memiliki kemampuan untuk menganalisis efek interaktif antar variabel dan meminimalkan waktu yang digunakan untuk proyek penelitian (Bezerra *et al.*, 2008). Tujuan utama dari RSM adalah untuk mendapatkan kondisi operasional yang optimal untuk sistem atau untuk memperoleh wilayah yang memenuhi spesifikasi operasi (Zhang *et al.*, 2016).

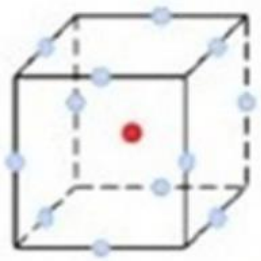
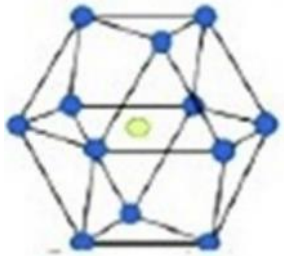
Optimasi proses dengan menggunakan RSM terdiri dari enam langkah yaitu (1) penyaringan faktor independen dan pemilihan respon yang diinginkan, (2) pemilihan strategi untuk desain eksperimen, (3) implementasi eksperimen dan memperoleh hasil, (4) penyesuaian model matematika yang diperoleh dengan data eksperimen, (5) konfirmasi model menggunakan grafik dan *analysis of variances* (ANOVA), dan (6) penentuan kondisi optimal (Karimifard & Moghaddam, 2018).

Pada umumnya, desain RSM dapat dikategorikan menjadi 4 jenis yaitu *full factorial design* (FFD), *box-behnken design* (BBD), *central composite design* (CCD), dan *Doehlert design* (DD) (Riswanto *et al.*, 2019). Perbedaan masing-masing jenis desain RSM dapat dilihat pada Tabel 4. Beberapa perangkat lunak komputer yang dapat digunakan untuk desain RSM merupakan Minitab 19. (Minitab Inc.), Design Expert (State-Ease Inc.), Statistica (Stat Soft), dan MATLAB (Mathworks). Metode RSM juga telah banyak diaplikasikan pada penelitian untuk mengoptimasi beberapa faktor seperti suhu, konsentrasi, waktu, dan ukuran partikel yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi (Setyawan *et al.*, 2018; Yuliani *et al.*, 2018), memprediksi kombinasi perlakuan yang optimal untuk ekstrak ragi (Srivastava *et al.*, 2018), dan mengoptimalkan proses untuk produksi sebuah produk enzim (Talluri *et al.*, 2019).

Tabel 4. Jenis Desain RSM

Desain	*Factor levels*	*Number of experiments*	RSM	Karakteristik	Gambar
FFD				• Semua kemungkinan kombinasi • Desain paling padat • Tidak ada batasan untuk jumlah faktor dan level	
Two-level full factorial (2-FFD)	$2 \leq k \leq 5$	2^k or 2^{k+1}	Tidak bisa	• Biasa digunakan untuk studi *screening*	
Two-level fractional factorial	> 4	2^{k-p}	Tidak bisa	• Biasanya digunakan untuk studi *screening* dengan jumlah *run* yang lebih sedikit	
Three-level full factorial (3-FFD)	3	3^k	Bisa	• Membutuhkan banyak *run*	
CCD	5	$2^k + 2^k + Cp$	Bisa	• Prediksi yang sangat bagus untuk seluruh area desain • Terdapat titik faktorial, titik aksial, dan titik tengah • Semua faktor dipelajari dalam 5 level (-α, -1, 0, -1, +α) • Nilai α dapat dihitung dengan rumus $\alpha=2^{(k-p)/4}$	

Tabel 4. (Lanjutan)

Desain	*Factor levels*	*Number of experiments*	RSM	Karakteristik	Gambar
BBD	3	2k(k–1)+Cp	Bisa	• *Run* lebih sedikit dibandingkan CCD • Tidak memiliki titik faktorial (titik ekstrim) • Semua faktor dipelajari dalam 3 level (-1, 0, +1) • Dirancang khusus untuk polinomial orde ke-2 • Memiliki area yang kualitas prediksinya buruk	
DD	Bergantung pada masing-masing faktor	k^2 +k+Cp	Bisa	• Tingkat faktor berbeda untuk setiap faktor • Jumlah level faktor yang tidak sama dan tinggi dengan *run* yang lebih sedikit • Efisien untuk polinomial orde kedua	

Sumber : (Karimifard & Alavi Moghaddam, 2018; Riswanto *et al.*, 2019; Witek-Krowiak *et al.*, 2014)

1.3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk menetapkan nilai optimum dua faktor, yaitu *aperture* dan jumlah pemindaian yang dapat mempengaruhi akurasi hasil deteksi dan identifikasi mikroplastik dengan menggunakan mikro-FTIR berbasis pendekatan *mapping*.