

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kadmium, tembaga dan timbal merupakan logam berat yang dapat ditemukan dalam produk pangan. Logam ini berada dalam bahan pangan nabati (tumbuh-tumbuhan) dan juga dapat terakumulasi dalam tubuh hewan yang mengkonsumsi tumbuhan tercemar logam berat. Saat manusia mengkonsumsi bahan pangan ini, logam berat telah terpapar langsung ke dalam tubuh. Paparan yang terus menerus inilah yang mengakibatkan adanya logam berat yang terakumulasi di dalam tubuh. Akumulasi yang terjadi terus menerus dapat menyebabkan gagal ginjal, kanker serta kerusakan sistem metabolisme pada tubuh manusia, sehingga logam berat ini dapat digolongkan sebagai logam beracun (Solidum, 2013). Oleh karena itu, substrat yang memiliki kemampuan dalam mengikat logam sangat dibutuhkan untuk mereduksi kadar logam di dalam tubuh (Saputri *et al.*, 2014).

Ampas buah jeruk merupakan limbah yang dihasilkan oleh industri pengolahan sari buah jeruk. Sebagai limbah, ampas buah jeruk ini kurang banyak dimanfaatkan, namun pada kenyataannya di dalam ampas jeruk terkandung pektin secara alami (Hariyati, 2006). Pektin merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk mengikat logam. Karena sifat inilah, pektin biasa dimanfaatkan sebagai *biosorbent* dalam proses pengkelatan logam (Hariyati, 2006). Karena keterbatasan penelitian yang menggunakan varietas jeruk lokal, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas pektin ampas jeruk keprok. Untuk memastikan efektivitasnya dalam penyerap logam secara *in vitro*, penelitian dilakukan menggunakan beberapa perbedaan waktu kontak antara pektin dan logam. Selain itu, juga dilakukan beberapa perlakuan pendahuluan berupa pengeringan pada bahan baku yang digunakan dalam ekstraksi pektin.

### 1.2. Tinjauan Pustaka

#### 1.2.1. Logam Berat

Logam berat adalah elemen kimiawi metalik dan metaloida yang memiliki bobot atom dan bobot jenis yang tinggi. Unsur-unsur yang tergolong dalam logam berat dapat bersifat racun bagi makhluk hidup sehingga dapat disebut dengan logam beracun.

Logam berat selalu menjadi masalah bagi lingkungan. Paparan logam berat yang terus menerus dapat mempengaruhi aspek kesehatan secara langsung (Solidum, 2013).

- **Kadmium (Cd)**

Kadmium ialah logam berat yang sangat beracun. Secara umum, kadmium dapat ditemukan pada tanah, bebatuan, batu bara, serta pada pupuk bermineral. Dalam kehidupan sehari-hari, kadmium biasa digunakan dalam baterai, cat, pelapis logam, serta plastik (Martin & Griswold, 2009). Rata-rata konsumsi kadmium harian yang berasal dari pangan pada area yang tidak terpolusi oleh kadmium adalah sebesar 10-40  $\mu\text{g}$ . *The World Health Organisation* (WHO) menerbitkan tingkat konsumsi kadmium mingguan yang dapat ditoleransi adalah sebesar 7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  berat badan (Nordic Council of Ministers, 2003). Kadmium dalam bentuk murni ataupun berikatan telah digolongkan sebagai zat karsinogen pada manusia, terlebih pada perokok (Martin & Griswold, 2009).

Apabila terpapar pada manusia, kadmium dapat menyebabkan iritasi, muntah, hingga diare (Martin & Griswold, 2009). Kadmium dapat terakumulasi dalam tubuh manusia, terutama pada ginjal. Efek lain dari kadmium adalah gangguan metabolisme kalsium, *hypercalciuria* dan pembentukan batu ginjal (Nordic Council of Ministers, 2003). Apabila durasi paparan terlalu lama, kadmium dapat menyebabkan penyakit pada ginjal, kerusakan paru-paru, serta mengakibatkan kerapuhan pada tulang (Martin & Griswold, 2009).

- **Tembaga (Cu)**

Tembaga adalah salah satu mineral yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah kecil (kurang dari 100 mg/hari), sehingga tergolong ke dalam mikromineral. Namun apabila berada dalam tubuh dalam jumlah yang melampaui ambang batas, tembaga akan menjadi racun bagi tubuh. *Joint Expert Committee on Food Contaminants and Additives* menganjurkan banyaknya tembaga yang dianjurkan dalam diet sehari-hari ialah sebesar 0,5 mg/kg berat badan (Environmental Health Unit of Queensland Government, 2002).

Dalam tubuh, tembaga sudah diabsorpsi oleh usus halus guna memenuhi kebutuhan tubuh. Setelah kebutuhan tubuh akan tembaga tercukupi, tubuh akan melakukan

mekanisme untuk mencegah lebihnya tembaga yang diserap oleh tubuh. Meskipun sudah ada mekanisme alami tubuh untuk mencegah terjadinya keracunan tembaga, paparan tembaga yang berlebih akan menyebabkan kerusakan hati dan ginjal, anemia, serta kerusakan sistem imun tubuh (U.S. Department of Health and Human Services, 2007).

Rute paparan tembaga pada manusia ialah melalui makanan dan air minum. Beberapa jenis makanan yang diketahui kaya akan tembaga adalah hati hewan-hewan ternak, cokelat, serta teh dan kopi. Hati domba, babi, serta sapi yang berusia muda mengandung tembaga sebesar 10-100 mg/kg. Cokelat serta produk olahannya, serta teh dan kopi mengandung tembaga lebih dari 10 mg/kg. Sedangkan makanan yang lain juga mengandung tembaga dalam jumlah kecil (kurang dari 10 mg/kg), dengan nilai tengah  $\pm$  2 mg/kg (Environmental Health Unit of Queensland Government, 2002). Tingkat konsumsi tembaga harian yang berasal dari bahan pangan adalah sebesar 0,014-0,019 mg/kg berat badan/hari (U.S. Department of Health and Human Services, 2007).

Laju penyerapan dan retensi tembaga dalam tubuh bergantung pada banyaknya tembaga yang dikonsumsi pada diet harian seseorang. Hati manusia yang normal akan mengatur banyaknya tembaga dalam tubuh dan mengekskresikan jumlah yang berlebih melalui sistem empedu. Jumlah tembaga dalam darah ialah sebesar 160-3480 fg/L, dengan jumlah pada serum darah sebesar 700-1400 fg/L untuk pria dan 850-1550 fg/L pada wanita. Ambang batas tembaga dalam tubuh berkisar antara 3-5 mg/L. Walau tembaga tidak digolongkan sebagai zat karsinogen, paparan tembaga yang berlebih dapat menyebabkan gejala akut, seperti: mual, muntah, dan diare, serta adanya iritasi lokal pada suatu bagian tubuh. Dalam tahap krosis, keracunan tembaga dapat menyebabkan sirosis hati yang bersifat fatal. Tembaga dalam tubuh dengan dosis lebih dari 50 mg/kg berat badan dapat bersifat letal (Environmental Health Unit of Queensland Government, 2002).

- **Timbal (Pb)**

Timbal adalah logam berat yang diproduksi akibat adanya aktivitas manusia yang berkaitan dengan pembakaran menggunakan minyak, penambangan, serta limbah

industri. Dalam kehidupan sehari-hari, timbal digunakan untuk memproduksi baterai, amunisi, produk berasal dari logam (solder dan pipa), serta alat pelindung X-ray. *Environmental Protection Agency* (EPA) mengklasifikasikan timbal sebagai *probable human carcinogen*. Timbal disebutkan beracun karena dapat mempengaruhi semua fungsi organ dan sistem yang ada di dalam tubuh. Paparan dalam jangka yang cukup panjang dapat mengakibatkan penurunan performa tubuh, seperti: penurunan fungsi saraf, kelemahan pada persendian (jari-jari, pergelangan tangan, dan pergelangan kaki), meningkatkan tekanan darah, serta mengakibatkan anemia. Paparan langsung pada timbal dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada otak dan ginjal, bahkan mengakibatkan kematian. Pada wanita yang sedang hamil, paparan timbal dapat mengakibatkan keguguran pada kandungan, sedangkan pada pria dapat mengakibatkan kerusakan pada organ-organ yang berkaitan dengan produksi sperma (Martin & Griswold, 2009).

Tingkat paparan timbal pada manusia diukur berdasarkan kadar timbal dalam darah (*blood lead levels, PbBs*). Pada PbB kurang dari 10-20  $\mu\text{g/dL}$ , laju filtrasi glomerulus akan mengalami penurunan. Perubahan sirkulasi hormon tiroid, contohnya *serum thyroxine* ( $T_4$ ) dan *thyroid stimulating hormone* (TSH) akan terjadi apabila PbB dalam tubuh mencapai 40-60  $\mu\text{g/dL}$ . Pada PbB 100-120  $\mu\text{g/dL}$  untuk dewasa dan 70-100  $\mu\text{g/dL}$  untuk anak-anak, paparan timbal mampu mempengaruhi fungsi otak. Ambang batas PbB untuk resiko kesehatan terendah ialah 30-40  $\mu\text{g/dL}$  untuk pria dan 24  $\mu\text{g/dL}$  untuk wanita (U.S. Department of Health and Human Services, 2007).

### 1.2.2. Pektin

Pektin diambil dari bahasa Yunani "*pektos*" yang dapat diterjemahkan secara harafiah kental dan keras. Pektin merupakan senyawa polimer asam galakturonat, yang tersusun atas turunan galaktosa dan dihubungkan dengan ikatan  $\alpha$ -1,4-glukosida (Perina *et al.*, 2007). Pektin ialah kombinasi kompleks dari polisakarida yang menyusun sepertiga dinding sel tumbuhan. Pektin biasa ditemukan pada tanaman dikotil, serta pada beberapa tanaman monokotil. Pektin juga dapat ditemukan pada dinding sel dari tumbuhan rumput-rumputan. Pada sel tanaman, pektin ditemukan pada bagian kompleks dinding sel dan lamella (Buren, 1991). Pektin biasa ditemukan di dalam buah dan sayur.

Pada buah, pektin biasa terdapat pada bagian daging buah maupun kulit buah. Buah-buahan yang dapat digunakan sebagai sumber pektin ialah apel, jeruk serta pisang (Perina *et al.*, 2007).

Pektin merupakan suspensi koloid yang *reversible*, sehingga tidak memiliki struktur yang tepat. Rantai pektin dapat membentuk ikatan silang gugus ester karena adanya kelompok ferulat dan koumarat yang menyokong pembentukan gel polisakarida. Pada hal ini, asam ferulat membentuk ester dengan adanya kelompok gula hidroksil (Buren, 1991). Pektin akan membentuk gumpalan saat ditambahkan air, namun lama-kelamaan akan larut. Pektin juga dapat membentuk larutan kental pada kondisi tertentu, sehingga banyak dimanfaatkan sebagai *thickening agent* (Perina *et al.*, 2007).

Pektin tersusun atas gugus karboksil yang bersifat polar dan mudah untuk memisah, serta gugus metil yang bersifat non polar. Derajat esterifikasi (DE) dapat diartikan sebagai persentase jumlah total gugus karboksil atau kandungan metoksil pada total pektin. Besarnya DE dapat diketahui dengan melakukan pengujian pada pektin. Pengujian tersebut dapat dilakukan dengan berbagai cara, misalnya titrimetri, pengujian methanol, dan reduksi kuprum (Walter, 1991). Berdasarkan DE yang dimiliki, pektin dapat dibedakan menjadi *high methoxyl pectin* (HMP) dan *low methoxyl pectin* (LMP). Dibandingkan dengan HMP, LMP bersifat lebih stabil terhadap uap air dan panas. Hal ini disebabkan kecenderungan pektin untuk mengalami deesterifikasi pada keadaan dengan humiditas tinggi. Pektin juga memiliki sifat yang stabil pada pH rendah (Pilgrim *et al.*, 1991).

Pektin dapat diperoleh dari buah jeruk yang diekstraksi. Proses ekstraksi tersebut memiliki tujuan untuk memisahkan senyawa pektin dari jaringan buah jeruk. Ekstraksi pektin dipengaruhi oleh berbagai faktor, misalnya: suhu, pH, kecepatan pengadukan, perbandingan *solute* dan *solvent*, serta lamanya waktu ekstraksi (Perina *et al.*, 2007). Pektin dalam jumlah kecil dapat diekstraksi dengan menggunakan metode alkali ataupun asam yang dikombinasikan dengan suhu tinggi (Buren, 1991). Pektin dengan DE yang rendah dihasilkan dari ekstraksi dengan menggunakan enzim dan hidrolisis

asam. DE pada pektin dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan, namun tidak dipengaruhi oleh bahan baku yang digunakan dalam ekstraksi (Walter, 1991).

Selain dengan menggunakan kombinasi asam dan suhu tinggi, ekstraksi pektin dapat juga dilakukan dengan metode-metode yang lain. Metode ekstraksi fisikokimia yang biasa dilakukan ialah dengan pemanasan langsung dan dengan pemanasan *microwave* (Srivastava & Malviya, 2011). Franchi *et al.* (2014) melakukan penelitian mengenai ekstraksi pektin dengan bantuan enzim. Enzim yang digunakan dalam ekstraksi pektin ialah *acidic polygalacturonase* (PGase) yang disebut sebagai PGI. Enzim ini dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu, salah satunya adalah *Aspergillus kawachii*.

Liew *et al.* (2015) melakukan ekstraksi pada kulit buah markisa kuning dengan menggunakan metode enzimatis. Kulit buah markisa kuning yang diekstrak dengan metode fisikokimia yang menggunakan asam akan menghasilkan rendemen dan DM yang berbeda apabila dibandingkan dengan metode ekstraksi enzimatis. Saat diekstrak dengan menggunakan metode asam, rendemen pektin yang diperoleh adalah sebesar 7,16%, dengan DM sebesar 71,02%. Ketika diekstrak dengan metode enzimatis, rendemen yang dihasilkan menurun menjadi 7,12%, dengan peningkatan DM menjadi 85,45%.

Lim *et al.* (2012) melakukan ekstraksi pektin pada ampas buah Yuza (*Citrus junos*) dengan menggunakan perpaduan metode fisikokimia dan enzimatis (*combined physical and enzymatic*, CPE). Pektin yang dihasilkan dari metode CPE ini memiliki rendemen sebesar 7,3% dan menghasilkan pektin dengan DE yang lebih tinggi, yakni sebesar 46% (pektin yang diekstrak dengan metode kimiawi konvensional memiliki DE 41%).

Pektin memiliki sifat yang asam dan koloidnya bermuatan negatif, karena adanya gugus karboksil bebas. Pada larutan 1% pektin yang tidak ternetralkan, akan terbentuk pH 2,7-3,0. Larutan pektin bersifat stabil pada pH 2,0-4,0. Pada pH lebih dari 4,0 atau kurang dari 2,0, viskositas dan kekuatan gelynya akan berkurang karena terjadi

depolimerisasi rantai pektin. Pektin juga dapat mengalami saponifikasi dan degradasi melalui reaksi  $\beta$ -eliminasi pada kondisi basa (Nelson *et al.*, 1977).

Pektin adalah bagian dari diet manusia, namun tidak memberikan kontribusi yang cukup signifikan pada aspek nutrisi. Jumlah konsumsi pektin harian diperkirakan sebesar 5 gram, apabila jumlah buah dan sayur yang dikonsumsi setiap harinya sebanyak 500 gram (Srivastava & Malviya, 2011).

Serat pangan yang masuk ke dalam tubuh manusia tidak dapat dicerna oleh tubuh. Serat pangan ini dapat melewati sistem pencernaan manusia tanpa terserap, sehingga membentuk kumpulan massa yang dibuang melalui sistem ekskresi manusia. Dalam sistem pencernaan manusia, pektin akan melewati usus halus tanpa tercerna, namun memiliki peranan dalam pertumbuhan mikroba probiotik dalam usus besar. Selain dapat melancarkan pencernaan, konsumsi pektin dapat menurunkan kolesterol dalam darah. Mekanisme penurunan kolesterol ini terjadi karena pektin meningkatkan viskositas dalam saluran pencernaan. Peningkatan viskositas ini diikuti dengan penurunan absorpsi kolesterol dari bilus ataupun makanan (Srivastava & Malviya, 2011).

Logam berat dalam tubuh dapat terserap kembali ke dalam sistem pencernaan (Eliaz *et al.*, 2007). Karena turut melewati sistem pencernaan manusia, pektin dapat menyerap logam berat yang terakumulasi di sepanjang sistem pencernaan tubuh (Guthrie, 1983). Selain pektin, DMPS dan EDTA merupakan contoh pengkelat yang dapat digunakan untuk mendetoksifikasi logam berat yang terdapat dalam tubuh. Meskipun begitu, senyawa ini dapat menghasilkan efek samping yang mengganggu kesehatan dan dapat turut mengikat mineral esensial dalam tubuh (Eliaz *et al.*, 2007).

Namun penggunaan pektin dapat digunakan sebagai pengkelat alternatif. Hal ini disebabkan oleh berat molekul pektin yang rendah dapat mengikat logam dengan selektif. Pektin hanya mengikat logam berat tanpa turut mengikat mineral esensial dari dalam tubuh. Kekuatan pengikatan yang dimiliki oleh pektin bervariasi, sesuai dengan afinitas pektin terhadap logam yang diikat. Hal tersebut didukung oleh tidak adanya efek samping yang dilaporkan atau didokumentasikan terkait dengan pengkelatan logam

berat dengan menggunakan pektin (Eliaz *et al.*, 2007). *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) dan *the European Union Scientific Committee for Food* menyatakan pektin sebagai bahan tambahan pangan yang aman untuk dikonsumsi, dengan *acceptable daily intake* (ADI) yang tidak ditentukan (*not specified*). *US Food and Drug Administration* (FDA) juga menggolongkan pektin sebagai *generally recognised as safe* (GRAS) (Brejnholt, 2010).

Selain digunakan untuk meningkatkan tekstur pada makanan, pektin dapat membungkus logam berat (Budiyanto dan Yulianingsih, 2008). Pektin diketahui merupakan penangkal yang baik untuk keracunan yang disebabkan oleh logam berat. Hal ini terjadi karena kemampuan pektin yang diketahui dapat menyerap logam (Endress, 1991). Pengkelatan merupakan proses pengikatan logam dengan melakukan penambahan senyawa pengkelat. Senyawa pengkelat memiliki kemampuan untuk mengikat logam sehingga terbentuk kompleks logam senyawa pengkelat. Kemampuan senyawa pengkelat dalam pengkelatan dipengaruhi oleh banyaknya jumlah pasangan elektron bebas yang tersedia pada senyawa pengkelat. Selain itu, proses pengkelatan juga sangat berkaitan dengan konsentrasi senyawa pengkelat (Saputri *et al.*, 2014).

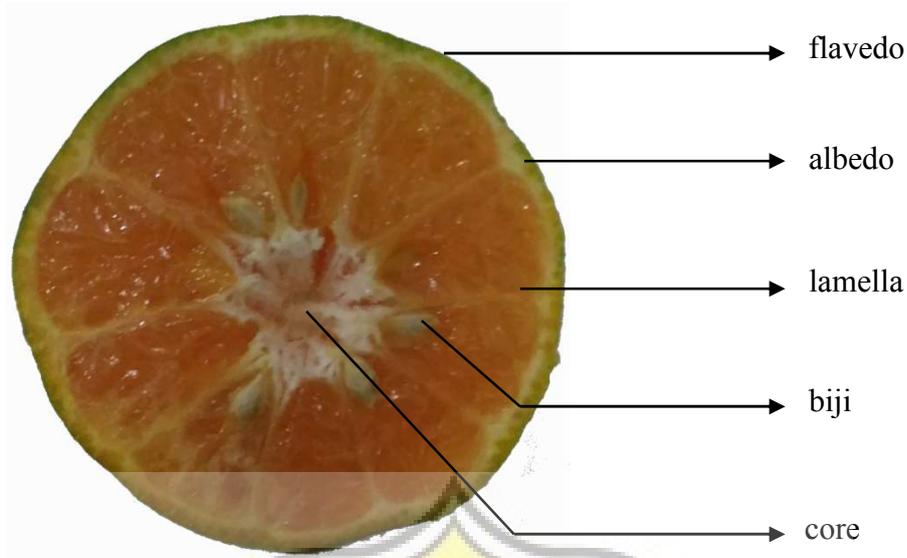
### 1.2.3. Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.)

Jeruk keprok merupakan salah satu jeruk yang banyak ditemukan di Indonesia. Oleh karena itu, jeruk keprok sudah sangat dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai hidangan pencuci mulut karena mudah ditemukan dengan harga yang cukup ekonomis.

Klasifikasi tanaman jeruk keprok adalah sebagai berikut:

- Divisi : *Spermatophyta*  
 Subdivisi : *Angiospermae*  
 Kelas : *Dicotyledonae*  
 Suku : *Rutacea*  
 Marga : *Citrus*  
 Jenis : *Citrus nobilis*  
 Varietas : *Citrus nobilis* Lour.

(Sarwono, 1986).



Gambar 1. Irisan Melintang Jeruk Keprok

Jeruk keprok dapat dibagi menjadi beberapa bagian-bagian utama. Dari luar hingga ke dalam, bagian utama tersebut adalah kulit (tersusun atas epidermis, flavedo, kelenjar minyak dan ikatan pembuluh), segmen-segmen (tersusun atas dinding segmen, rongga cairan dan biji) serta *core* (bagian tengah, tersusun atas ikatan pembuluh dan jaringan parenkima). Bagian buah jeruk keprok ini, terlebih pada bagian lamella, mengandung pektin yang dapat dimanfaatkan untuk menyerap racun dari dalam tubuh (Hariyati, 2006).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hariyati (2006), menggunakan jeruk Pontianak sebagai bahan baku pembuatan ekstrak pektin. Dari penelitian yang dilakukan oleh Fitriani (2003), diketahui bahwa pengeringan bahan baku dengan suhu  $55^{\circ}\text{C}$  akan meningkatkan rendemen dari ekstrak pektin yang dihasilkan. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Zhao *et al.* (2008) menunjukkan bahwa *modified citrus pectin* (MCP) yang diberikan pada anak-anak yang mengalami keracunan timbal dapat menurunkan kadar timbal dalam serum darah. Penurunan kadar timbal ini terjadi karena pektin mengikat logam dari dalam serum darah dan dikeluarkan dari dalam tubuh. Mekanisme yang terjadi ialah LMP yang bermuatan negatif dapat mengikat kation bermuatan positif sehingga terbentuk *cross-link*. Natrium, kalium serta ion monovalen

yang lain dapat terikat pada rantai pektin secara elektrostatis, sedangkan *divalent cation* diikat oleh LMP dengan mekanisme *egg-box* (Brejnholt, 2010).

### 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk:

- Mengetahui efektivitas pektin yang diperoleh dari ampas jeruk keprok dalam mengikat logam beracun secara *in vitro* berdasarkan waktu kontak dan perlakuan pengeringan bahan baku.

