

EFEKTIVITAS KMK DAN Na₂EDTA DALAM MENGABSORBSI PAPARAN MERKURI PADA IKAN LELE (*Clarias batrachus*)

Tuti Hartati Siregar¹), Nandang Priyanto¹), dan Dwiyitno¹)

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengamati efektivitas karboksimetil kitosan (KMK) sebagai bahan pengkelat alami dan Na₂EDTA sebagai bahan pengkelat sintetis logam berat merkuri (Hg) pada ikan lele. Ikan lele yang digunakan adalah jenis lele dumbo yang diperoleh dari Bogor. Ikan dipelihara dalam kolam berukuran 380 x 150 x 60 cm³. Air kolam sebanyak 570 L yang berisi 200 ekor ikan lele dipapar dengan Hg 60–90 ppb secara bertahap selama 1 bulan dan penggantian air kolam dilakukan setiap minggu. Sebelum pemaparan dengan Hg dilakukan, ikan lele dikondisikan pada kolam percobaan selama 1 minggu. Pada minggu ke dua ikan dipapar merkuri 60 ppb, kemudian konsentrasi merkuri dinaikkan 15 ppb setiap minggu sampai dengan minggu ke empat. Pemaparan dihentikan setelah minggu ke empat. Setelah itu ikan dipanen kemudian difilet dan dikelat dengan cara direndam dalam larutan KMK dan Na₂EDTA masing-masing pada konsentrasi 0; 0,5; 1,0; dan 1,5% selama 0, 30, 60, dan 90 menit. Perendaman dalam air digunakan sebagai kontrol terhadap perlakuan tersebut. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Pengamatan yang dilakukan meliputi kandungan awal dan kandungan akhir Hg setelah perlakuan perendaman. Analisis dilakukan menggunakan instrumen AAS (*Perkin Elmer tipe Aanalyst 800*). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman dalam KMK dan Na₂EDTA 0,5% selama 30 menit memberikan hasil yang terbaik, dan tidak ada perbedaan antara KMK dan Na₂EDTA dalam fungsinya sebagai absorben logam berat.

ABSTRACT: *Effectiveness of carboxymethyl chitosan and Na₂EDTA in the absorbtion of mercury exposed on catfish (*Clarias batrachus*). By: Tuti Hartati Siregar, Nandang Priyanto and Dwiyitno*

*This research was conducted to observe the effectiveness of carboxymethyl chitosan (CMCts) as a natural chelating agent and Na₂EDTA as synthetic chelating agent for heavy metal mercury (Hg) in catfish. Catfish used in this experiment was **Clarias batrachus** obtained from Bogor. Two hundreds catfish were reared in a pond 380 x 150 x 60 cm³ filled with 570 L of water and exposed to 60–90 ppb mercury gradually over a month and water was changed every week. Firstly, catfish were placed in the pond without addition of Hg. After one week, water was exposed to 60 ppb of Hg. Furthermore, concentration of Hg was increased gradually by 15 ppb every week until week 4th. At the end of the fourth week, catfish were harvested, filleted, and immersed in CMCts and Na₂EDTA solution at concentration of 0; 0.5; 1.0 and 1.5% for 0, 30, 60 and 90 minutes. Immersion in water was used as control. The treatment was done in 3 replicates. The observations were conducted on Hg content before and after treatment. Analysis of Hg content was performed using AAS instrument (*Perkin Elmer type Aanalyst 800*). Results showed that the best treatment was immersion in either 0.5% CMCts or 0.5% Na₂EDTA for 30 min, and no significant differences observed between CMCts and Na₂EDTA in their function as Hg absorbent.*

KEYWORDS: *African catfish, carboxymethyl chitosan, Na₂EDTA, mercury*

PENDAHULUAN

Pembuangan limbah industri yang tidak terkontrol ke lingkungan perairan akan berdampak pada kehidupan organisme yang berada dalam lingkungan tersebut. Salah satu pencemaran air adalah masuknya logam berat berbahaya seperti merkuri (Hg) ke dalam air tersebut. Palar (1994) menyatakan bahwa keracunan yang diakibatkan oleh logam merkuri dalam tubuh umumnya bersifat permanen serta dapat mengakibatkan keracunan akut dan keracunan kronis.

Direktorat Jenderal POM dalam Kep. Ditjen POM No. 03725/B/SK/1989 menetapkan batas maksimum akumulasi logam Hg dalam tubuh ikan dan organisme untuk dikonsumsi sebesar 0,5 ppm (Anon., 1989).

O'Connel *et al.* (2008) mengatakan bahwa reduksi logam berat dalam lingkungan perairan dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti absorpsi, pengendapan, penukar ion, filtrasi membran dan reduksi elektrokimia. Di antara semua metode yang tersedia, metode absorpsi merupakan metode yang

¹ Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, KKP; E-mail:toetihs@yahoo.com

terbaik karena pengoperasiannya lebih cepat dan biayanya lebih ekonomis.

Penelitian dan modifikasi absorben untuk mengurangi cemaran logam berat dalam perairan telah banyak dilakukan. Wang *et al.* (2003), mengabsorpsi Co dan Zn dari air dengan berbagai absorben seperti Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , FeS, pelet Mg, Cu, Zn, Al, dan Fe. Uheida *et al.* (2006) membuat nanopartikel dari Fe_2O_4 dan $\text{g-Fe}_2\text{O}_3$ dalam berbagai variasi pH dan waktu untuk mengabsorpsi Co^{2+} dari larutan. Girginova *et al.* (2010) mencoba memanfaatkan teknik pemisahan magnetik untuk menarik ion Hg^{2+} dari air dengan cara membuat silika yang dilapisi dengan partikel magnet.

Kitin dan kitosan merupakan produk samping dari limbah perikanan khususnya limbah krustasea (udang dan kepiting) yang berpeluang untuk dimanfaatkan dalam industri. Gugus amino dan hidroksil yang terikat pada kitin dan kitosan serta turunannya menyebabkan senyawa-senyawa tersebut mempunyai kreatifitas kimia yang tinggi dan sifat polielektrolit kation yang dapat berperan sebagai penukar ion (*ion exchanger*), serta dapat berperan sebagai absorben logam berat dalam air limbah (Rinaudo & Domard, 1989).

Kitosan hanya larut dalam asam (umumnya dalam asam lemah) dan kelarutannya menurun seiring dengan kenaikan pH (Koide, 1998). Hal ini menjadi kendala dalam pemanfaatannya secara luas terutama dalam industri farmasi, kosmetik, dan pangan, karena banyak produk aplikasi dari industri-industri tersebut yang menuntut penggunaan kitosan yang bersifat larut dalam air. Modifikasi kitosan dapat meningkatkan kelarutannya dalam pH netral. Chung *et al.* (2005) memodifikasi kitosan menjadi maltosa-kitosan melalui reaksi *Maillard*. Zhang *et al.* (2003) menambahkan gugus o-suksinil untuk meningkatkan kelarutan kitosan dalam media air. Bader & Birkholz (1997) mereaksikan kitosan dengan monokloro asetat untuk menghasilkan KMK yang larut dalam air. Berdasarkan sifat-sifat yang dimiliki, kitosan dan turunannya dapat digunakan sebagai absorben logam berat yang larut dalam air.

Percobaan untuk membandingkan efektifitas garam dari NTA, EDTA, DDTA, DTPA, dan DDC dalam mengkelat logam berat secara *in vivo* pada ikan *Notopterus notopterus*, telah dilakukan dan hasilnya menunjukkan bahwa Na_2EDTA memberikan hasil yang lebih baik dalam mengkelat Hg dibanding bahan pengkelat lainnya (Verma *et al.*, 1981).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan efektifitas KMK dan Na_2EDTA dalam mengkelat logam berat Hg, serta mengetahui konsentrasi keduanya dan lama waktu perendaman yang efektif untuk menurunkan kandungan logam berat Hg dalam daging ikan.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele (*Clarias batrachus*) berukuran ± 250 gram per ekor yang diperoleh dari pembudidaya ikan di Bogor, Jawa Barat. Kitin yang berasal dari limbah udang sebagai bahan baku untuk membuat KMK diperoleh dari CV. Dinar, Bogor dengan nilai derajat deasetilasi sebesar 37%.

Prosedur Pemaparan Merkuri pada Ikan Lele

Percobaan dilakukan dengan pemaparan logam merkuri pada ikan yang masih hidup untuk memastikan daging ikan yang digunakan dalam penelitian mengandung logam berat dan diketahui konsentrasinya secara pasti. Pemaparan logam berat dilakukan dengan mengacu metode Verma *et al.* (1981) dengan modifikasi pada konsentrasi merkuri yang digunakan selama pemaparan. Pada percobaan ini pemaparan merkuri dilakukan secara bertahap untuk menghindari stres pada ikan lele sedangkan pada metode Verma *et al.* (1981) pemaparan dilakukan dengan konsentrasi yang sama dari awal sampai akhir yaitu 90 ppb.

Ikan lele sebanyak 200 ekor masing-masing berukuran ± 250 g ditempatkan pada kolam berukuran $380 \times 150 \times 60 \text{ cm}^3$ yang diisi air 570 L. Pada minggu pertama ikan dikondisikan pada kolam percobaan tanpa pemaparan merkuri. Setelah satu minggu diambil 10 ekor ikan lalu dipelihara pada akuarium untuk selanjutnya digunakan sebagai kontrol. Pemaparan merkuri dilakukan secara bertahap setiap minggu dari minggu kedua sampai minggu keempat berturut-turut sebesar 60, 75, dan 90 ppb. Penggantian air kolam dilakukan setiap minggu saat dilakukan peningkatan konsentrasi paparan merkuri. Pada minggu pertama merkuri berbentuk HgCl_2 ditimbang sebanyak 34,2 mg lalu dilarutkan dalam air, kemudian dimasukkan dalam kolam dan airnya ditepatkan sampai 570 L. Pada minggu ketiga dan keempat, jumlah HgCl_2 yang ditambahkan berturut-turut adalah 42,75 mg dan 51,3 mg. Pada minggu kelima ikan dipanen untuk kemudian dianalisis kandungan merkurnya.

Prosedur Pembuatan Kitosan

Pembuatan kitosan dari kitin dilakukan dengan menggunakan metode Dwiwitno *et al.* (2004).

Prosedur Pembuatan Karboksimetil Kitosan

Pembuatan KMK dilakukan dengan menggunakan metode Bader & Birkholz (1997) yang telah dimodifikasi oleh Dwiwitno *et al.* (2004).

Derajat deasetilasi kitin, kitosan, dan KMK yang digunakan dalam penelitian ini dianalisis menggunakan alat spektrometer FTIR (*Perkin Elmer type Spectrum One*).

Perlakuan Percobaan

Analisis kadar merkuri dalam daging ikan dilakukan menggunakan metode analisis biota oleh Hutagalung *et al.* (1997). Daging ikan lele difilet, kemudian ditimbang untuk masing-masing perlakuan 150 gram. Daging ikan direndam masing-masing dalam larutan KMK dan Na₂EDTA dengan konsentrasi 0; 0,5; 1,0; dan 1,5% selama 30, 60, dan 90 menit. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Preparasi sampel dilakukan dengan menggunakan metode Hulagalung *et al.* (1997). Pengukuran kadar merkuri menggunakan alat AAS (*Atomic Absorbtion Spectrophotometry*) Perkin Elmer *Aanalyst* 800. Sampel yang berupa filet daging ikan lele sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis dengan menggunakan alat AAS untuk mengetahui besarnya kandungan merkuri. Prinsip metode penentuan kadar logam berat dengan AAS didasarkan pada Hukum Lambert-Beer, yaitu banyaknya sinar yang diserap berbanding lurus dengan kadar zat. Pengatoman dilakukan dengan menambahkan zat kimia yang bersifat reduktor yaitu NaBH₄. Pengukuran dengan AAS dilakukan dengan menggunakan detektor deuterium.

Analisis Data

Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman larutan KMK dan Na₂EDTA pada daging ikan lele dianalisis dengan uji F, yang kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan.

HASIL DAN BAHASAN

Karakteristik Karboksimetil Kitosan

Kitosan yang diperoleh mempunyai derajat deasetilasi 47%. Nilai ini belum masuk dalam standar derajat deasetilasi (Li *et al.*, 1992) karena masih berada di bawah 55%. Nilai derajat deasetilasi berhubungan dengan kemampuan kitosan untuk larut

dalam asam lemah. Kitosan yang dihasilkan larut dalam asam asetat 1% dalam waktu satu malam. Hasil analisis KMK dapat dilihat pada Table 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar air KMK yang dihasilkan sudah memenuhi standar yaitu di bawah 10% (Li *et al.*, 1992). Kadar air tersebut bisa dipertahankan dengan pengemasan yang baik karena kecenderungan KMK yang menarik uap air dari lingkungannya. Kelarutan KMK yang dihasilkan cukup tinggi yaitu 98%. Hal ini menunjukkan bahwa KMK tersebut dapat larut dengan baik dalam air walaupun belum larut sempurna. Derajat deasetilasi KMK yang dihasilkan juga sama dengan produk kitosan awal yaitu 47%. Tidak ada nilai standar derajat deasetilasi untuk KMK karena yang umum digunakan untuk menentukan kualitas KMK adalah kelarutannya dalam air dan derajat substitusi.

Kandungan Merkuri Ikan Lele

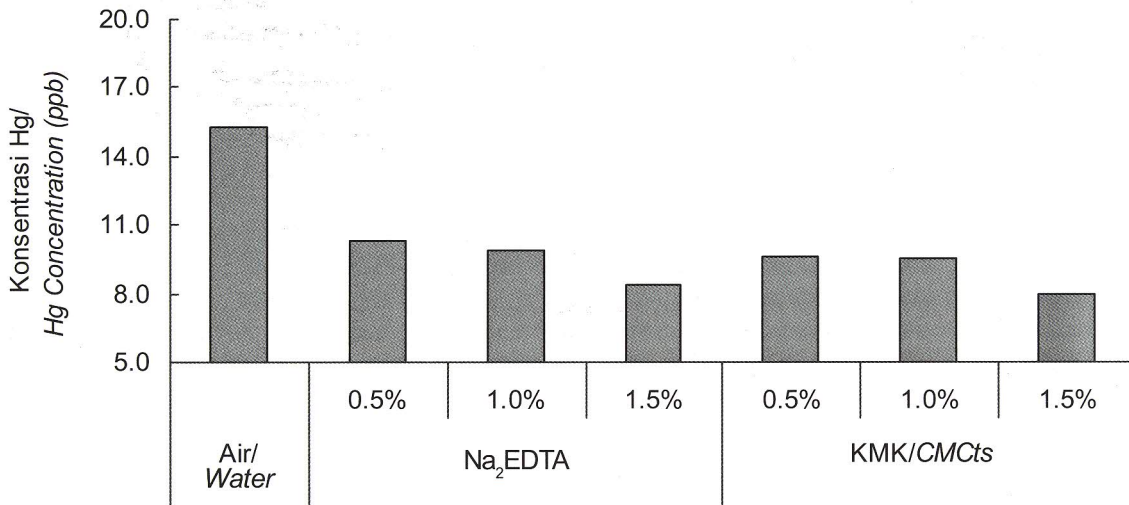
Hasil analisis kandungan merkuri pada daging ikan sebelum dan setelah paparan selama 4 minggu berturut-turut adalah 3,96 dan 16,60 ppb. Hal ini menunjukkan bahwa ikan lele yang digunakan dalam sampel telah tercemar oleh logam merkuri walaupun masih dalam jumlah yang kecil. Setelah paparan selama 4 minggu kandungan logam merkuri pada daging ikan lele meningkat dari 3,96 menjadi 16,60 ppb atau mengalami peningkatan sekitar 4 kali. Dengan nilai ini dipastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian telah mengandung kadar merkuri yang cukup untuk dikelat.

Hasil analisis kandungan merkuri dalam daging ikan lele menggunakan AAS setelah dikelat selama 30 menit dapat dilihat pada Gambar 1. Dari gambar tersebut terlihat bahwa kandungan merkuri dalam daging ikan setelah direndam dalam air selama 30 menit cenderung tidak berubah, yaitu dari 16,60 ppb menjadi 15,25 ppb. Hal ini terjadi karena merkuri terikat kuat dengan daging ikan sementara air tidak bisa mengkelat merkuri tersebut (Mulyono, 2000).

Dari Gambar 1 juga terlihat bahwa baik KMK maupun Na₂EDTA mampu mengkelat logam berat sekitar 40–50%. Hasil perhitungan statistik menggunakan uji F yang dilanjutkan dengan uji

Tabel 1. Hasil analisis karboksimetil kitosan
Table 1. The property of carboxymethyl chitosan

Parameter/Parameter	Nilai/Values
Kadar air/Water content	5%
Kelarutan/Solubility	98%
Derajat deasetilasi/Deacetylation degree	47%



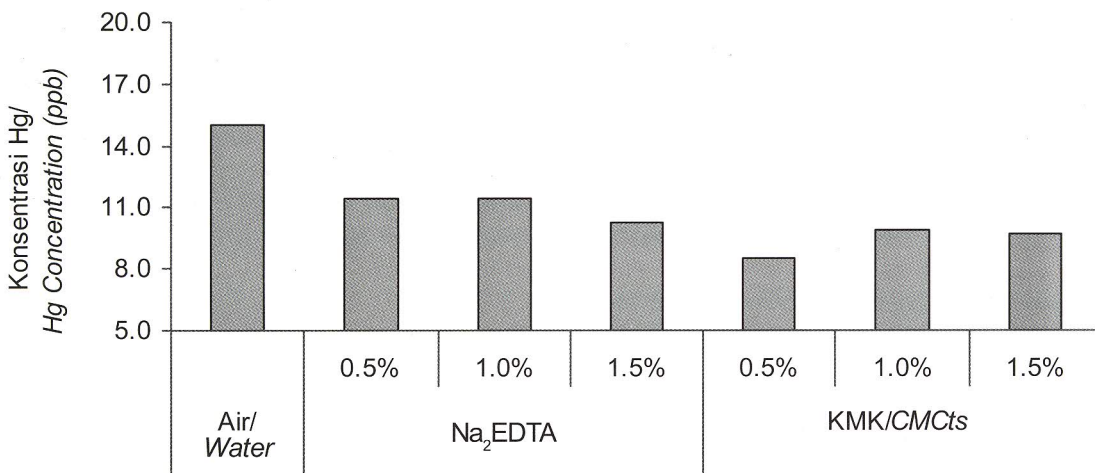
Gambar 1. Kandungan merkuri pada ikan lele setelah dikelat selama 30 menit.
 Picture 1. Mercury content in catfish after 30 minute chelating process.

Duncan menunjukkan bahwa peningkatan jumlah konsentrasi pengkelat baik Na₂EDTA maupun KMK cenderung tidak berbeda nyata dalam mengkelat logam merkuri. Kandungan merkuri dalam daging ikan setelah dikelat dengan Na₂EDTA dan KMK pada konsentrasi 0,5; 1,0; dan 1,5% tidak berbeda secara signifikan, tetapi berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol atau absorpsi merkuri menggunakan air.

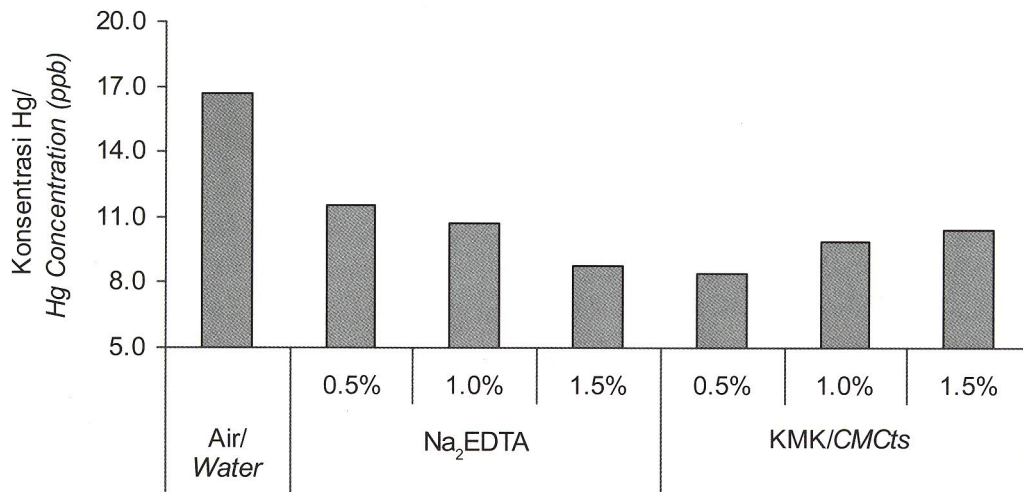
Hasil analisis kandungan merkuri dalam daging ikan lele setelah dikelat dengan Na₂EDTA dan KMK selama 60 dan 90 menit dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.

Seperti halnya perlakuan pertama (perendaman 30 menit), dari Gambar 2 dan 3 terlihat bahwa air tidak

efektif digunakan untuk mengurangi logam berat dalam daging ikan lele. Kemampuan Na₂EDTA dan KMK dalam mengabsorpsi merkuri setelah perendaman selama 60 dan 90 menit cenderung sama dengan perlakuan perendaman selama 30 menit, yaitu sekitar 40–50%. Hasil perhitungan statistik dengan uji F yang dilanjutkan dengan uji Duncan juga menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara perendaman selama 30, 60, maupun 90 menit. Berdasarkan waktu yang dibutuhkan untuk mengkelat dan konsentrasi merkuri yang bisa dikelat, perendaman selama 30 menit merupakan waktu yang lebih efektif untuk mengurangi kandungan logam berat dalam daging ikan lele. Konsentrasi merkuri yang terpapar dalam daging ikan lele masih jauh di bawah ambang batas. Ditjen POM melalui peraturan Kep. Ditjen POM No. 03725/B/SK/



Gambar 2. Kandungan merkuri pada ikan lele setelah dikelat selama 60 menit.
 Picture 2. Mercury content in catfish after 60 minute chelating process.



Gambar 3. Kandungan merkuri pada ikan lele setelah dikelat selama 90 menit.

Picture 3. Mercury content in catfish after 90 minute chelating process.

1989 mensyaratkan ambang batas maksimum merkuri yang dibolehkan ada dalam bahan pangan adalah 500 ppb atau 0,5 ppm (Anon., 1989)

KESIMPULAN

Na₂EDTA dan KMK cukup efektif untuk mengurangi cemaran merkuri dalam daging ikan lele yaitu sekitar 40–50%. Peningkatan konsentrasi Na₂EDTA dan KMK, serta lama perendaman cenderung tidak menambah efektifitas kedua bahan tersebut dalam mengurangi cemaran merkuri. Perendaman dalam larutan Na₂EDTA maupun KMK pada konsentrasi 0,5% selama 30 menit sudah cukup efektif mengurangi cemaran merkuri dalam daging ikan lele.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1989. *Batas Maksimum Akumulasi Logam Hg dalam Tubuh Ikan dan Organisme untuk Dikonsumsi*. Kep. Ditjen POM No. 03725/B/SK/1989.

Bader, H.J., and Birkholz, E., 1997. Teaching chitin chemistry. In Muzzareli and Peter, M.G. (eds.). *Chitin Handbook*. European Chitin Society. p. 507–519.

Chung, Y.C., Kuo, C.L., and Chen, C.C. 2005. Preparation and important functional properties of water-soluble chitosan produced through Maillard reaction. *Bioresour. Technol.* 96(13): 1473–1482.

Dwiyitno, Basmal, J., dan Mulyasari. 2004. Pengaruh suhu esterifikasi terhadap karakteristik karboksimetil kitosan (CMCts). *J. Penel. Perik. Indonesia. Edisi Pasca Panen*. 10(3): 67–73

Girginova, P.I., Daniel-da-Silva, A.L., Lopes, C.B., Figueira, P., Otero, M., Amaral, V.S., Pereira, E. and Trindade, T. 2010. Silica coated magnetite particles for magnetic

removal of Hg²⁺ from water. *J. Colloid Interface Sci.* 345(2): 234–240.

Hutagalung H.P., Setiapermana, D., dan Riyono, S.H. 1997. *Metode Analisis Air Laut, Sedimen dan Biota*. Buku 2. Puslitbang Oceanologi LIPI. Jakarta. p.59–79.

Koide, S.S. 1998. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. *Nutr. Res.* 18(6): 1091–1101.

Li, Q., Dunn, E.T., Grandmison, E.W., and Goosen, M.F.A. 1992. Applications and properties of chitosan. *J. Bioact. Compat. Polym.* 7(4): 370–397.

Mulyono, D. 2000. Teluk Jakarta dan kualitas hasil perikanan. *Lingkungan dan Pembangunan*. 20(2): 117–123.

O'Connell, D.W., Birkinshaw, C., and O'dwyer, T.F. 2008. Heavy metal absorbents prepared from the modification of cellulose: A review. *Bioresour. Technol.* 99(15): 6709–6724.

Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Rineka, Jakarta. 152 pp.

Rinaudo, M. and Domard, A. 1989. Solution properties of chitosan. In Braek, G.S., Anthonsen, T., and Stanford, P. (eds.). *Chitin and Chitosan*. Elsevier Science Publisher Ltd, NYC, US

Uheida, A., Salazar-Alvarez, G., Björkman, E., Yu, Z., Muhammed, M. 2006. Fe₃O₄ and α -Fe₂O₃ nanoparticles for the absorption of Co²⁺ from aqueous solution. *J. Colloid Interface Sci.* 298(2): 501–507.

Verma, S.R., Jain, M., and Dalela, R.C. 1981. In vivo removal of a few heavy metals in certain tissues of the fish *Notopterus notopterus*. *Environ. Res.* 26: 328–334.

Wang, Y.H., Lin, S.H., and Juang, R.S. 2003. Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using various low cost absorbents. *J. Hazard. Mater.* 102(2–3): 291–302.

Zhang, C., Ping, Q., Zhang, H., and Shen, J. 2003. Synthesis and Characterization of Water Soluble O-Succinyl Chitosan. *Eur. Poly. J.* 39: 1629–1634.