

## Perbandingan Kaedah Ekstraksi Mikroplastik dalam Makanan Terproses Budu menggunakan Air Suling dan Kalium Hidroksida

(Comparison of Microplastic Extraction Methods in Processed Food *Budu* using Distilled Water and Potassium Hydroxide)

AZWAN MAT LAZIM<sup>1,2,\*</sup>, NAHRUSYIFA ABDUL KARIM<sup>1</sup> & NURFARAH DYANA BAKRI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

<sup>2</sup>*Polymer Research Centre (PORCE), Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

*Diserahkan: 25 Mac 2024/Diterima: 28 Ogos 2024*

### ABSTRAK

Pencemaran mikroplastik di dalam makanan yang diproses masih kurang mendapat perhatian. Kaedah ekstraksi mikroplastik daripada sampel makanan juga masih belum meluas terutama bagi sampel makanan yang melalui proses pembuatan yang kompleks seperti budu. Penggunaan bahan kimia semasa proses pengestrakkan mikroplastik berpotensi menyebabkan kehilangan mikroplastik. Oleh itu, kajian ini membandingkan keberkesanan kaedah ekstraksi menggunakan air suling dan larutan kalium hidroksida (KOH) untuk proses ekstraksi mikroplastik daripada lima jenis sampel budu yang berbeza. Hasil kajian menunjukkan bahawa air suling mampu mengekstrak mikroplastik namun tidak cukup berkesan dalam mengurai bahan organik pada sampel budu yang mengganggu proses pengenalpastian mikroplastik. Penambahan larutan kimia seperti KOH adalah perlu untuk membantu memudahkan proses pengenalpastian mikroplastik. Jumlah mikroplastik yang ditemui dalam kesemua sampel budu adalah rendah, dengan kehadiran sebanyak 19 zarah mikroplastik. Walau bagaimanapun, kehadiran mikroplastik jenis nilon dan logam berat mungkin akan menimbulkan kebimbangan terhadap potensi impaknya kepada kesihatan manusia. Kajian ini menekankan pentingnya pengawalan pencemaran mikroplastik melalui teknik penyediaan yang terkawal dan pemantauan yang tekal dalam industri pemprosesan makanan di Malaysia.

Kata kunci: Budu; ikan bilis; mikroplastik

### ABSTRACT

Microplastic contamination in processed foods has received limited attention. Moreover, extraction methods for microplastics from food samples are not yet widespread, especially for food samples that undergo complex manufacturing processes, such as *budu*. The use of chemicals during the microplastic extraction process has the potential to cause microplastic loss. Therefore, this study compares the effectiveness of extraction methods using distilled water and potassium hydroxide (KOH) solution to extract microplastics from five different samples of *budu*. The results show that while distilled water can extract microplastics, it is not sufficiently effective in digesting organic matter in *budu* samples, which hinders the identification process of microplastics. Therefore, the addition of chemical solutions like KOH is necessary to facilitate the identification process. The amount of microplastics found in *budu* is low, with a total presence of 19 microplastics particles. However, the presence of nylon microplastics and heavy metals may raise concerns about their potential impact on human health. This study underscores the importance of controlling microplastic pollution through controlled preparation techniques and consistent monitoring in the food processing industry in Malaysia.

Keywords: Anchovy sauce; budu; microplastic

### PENGENALAN

Budu merupakan makanan ruji bagi sesetengah rakyat Malaysia, khususnya di kawasan Pantai Timur seperti Kelantan dan Terengganu. Budu bukan sahaja dimakan sebagai pelengkap kepada nasi, tetapi juga digunakan dalam pelbagai hidangan tradisi, menjadikannya sumber penting dalam diet harian penduduk setempat (Mohamed et al.

2012). Walau bagaimanapun, laopran terhadap kehadiran mikroplastik di dalam ikan bilis yang merupakan bahan utama dalam pembuatan budu, menimbulkan kebimbangan yang signifikan (Collard et al. 2017; Ningrum, Patria & Sedayu 2019). Mikroplastik adalah serpihan plastik yang sangat kecil, atau didefinisikan sebagai plastik yang berukuran kurang daripada 5 milimeter (Arthur, Baker

& Bamford 2009). Kesan buruk mikroplastik hangat dibincangkan sejak tahun 1972 apabila mikroplastik pertama kali ditemukan oleh Carpenter et al. (1972). Hal ini disebabkan oleh kebolehpayaan mikroplastik untuk menyerap bahan toksik seperti bahan pencemar organik berterusan (POP) daripada persekitarannya melalui proses penjerapan (Bakir, Rowland & Thompson 2014; Ramasamy & Palanisamy 2021). Antara bahan POPs yang sering dikaitkan dengan mikroplastik adalah polisiklik hidrokarbon (PAHs), poliklorinated bifenil (PCBs) dan pestisida disebabkan oleh sifat hidrofobiknya (Miller et al. 2019; Pozo et al. 2020). Apabila mikroplastik yang terdedah dengan bahan toksik dan dimakan oleh organisma laut seperti ikan, ia boleh berpindah ke dalam rantaian makanan. Ini boleh menyebabkan penumpukan bahan kimia beracun ke dalam tisu organisms hidup yang lain (Borges-Ramírez et al. 2020; Smith et al. 2018).

Selari dengan itu, banyak kajian telah menumpukan perhatian kepada kehadiran mikroplastik pada ikan atau haiwan laut, namun terdapat jurang yang ketara dalam penyelidikan berkaitan kehadiran mikroplastik dalam makanan yang diproses. Tambahan pula, pengambilan jangka panjang mikroplastik melalui makanan ruji seperti budu boleh membawa kepada pengumpulan mikroplastik dalam tubuh manusia dan meningkatkan risiko kesihatan seperti gangguan perkembangan dan reproduksi (Critchell & Hoogenboom 2018; Sussarellu et al. 2016). Dengan pengeluaran budu yang boleh mencapai lebih daripada 60,000 botol sebulan atau 10 juta botol setahun di Malaysia dan penggunaan lebih daripada 4 tan ikan bilis untuk proses penghasilannya, potensi pendedahan kepada mikroplastik adalah sangat tinggi (Kelantan Click 2024). Oleh itu, adalah penting untuk menjalankan kajian lanjut mengenai kehadiran mikroplastik dalam makanan ruji ini dan mencari langkah untuk mengurangkan pendedahan mikroplastik kepada pengguna.

Baru-baru ini, beberapa kaedah pengekstrakan mikroplastik daripada tisu sampel telah diperkenalkan, antaranya termasuklah penggunaan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), kalium hidroksida (KOH) dan enzim. Walau bagaimanapun, Thiele, Hudson dan Russell (2019) melaporkan penggunaan larutan  $H_2O_2$  semasa proses penguraian telah menghasilkan buih yang banyak sehingga menyebabkan kehilangan zarah mikroplastik yang kecil. Dan walaupun enzim mampu memecahkan bahan organik dengan sangat cekap tetapi kos yang tinggi dan tempoh pencernaan yang panjang adalah hal yang perlu dipertimbangkan semasa proses pengekstrakan mikroplastik pada kuantiti yang banyak (Cole et al. 2011; Jaafar et al. 2020). Oleh itu, larutan KOH telah dipilih untuk proses penguraian bahan organik seperti tisu biologi dan detritus dengan kesan minimal terhadap integriti polimer menjadikannya sesuai untuk mengekstrak mikroplastik (Ding et al. 2022; Zhao et al. 2017). Karami et al. (2017) telah menjalankan suatu penyelidikan untuk mengkaji

kesan suhu terhadap larutan KOH dalam mengekstrak mikroplastik daripada tisu ikan. Kajiannya melaporkan bahawa KOH berupaya untuk menjejaskan integriti sampel mikroplastik, terutamanya polimer yang sensitif terhadap suhu yang tinggi seperti nilon.

Menyedari betapa pentingnya kaedah pengekstrakan mikroplastik, kajian oleh Zhang et al. (2018) telah menunjukkan keberkesanan penggunaan air suling tanpa melibatkan bahan kimia dalam mengekstrak mikroplastik jenis polietilena (PE) dan polipropilena (PP) daripada sampel tanah dengan kadar pemulihan dianggarkan sebanyak 90%. Seperti yang diketahui umum, proses pembuatan budu itu sendiri telah melibatkan beberapa bahan tambahan (garam, enzim dan bahan perasa lain) dan mengambil masa selama 6 sehingga 12 bulan untuk proses perapan ikan bilis sehingga menjadi cecair. Oleh yang demikian, penggunaan air suling untuk mengekstrak mikroplastik telah dipilih sebagai alternatif yang lebih lembut untuk mengkaji kehadiran mikroplastik pada sampel budu yang telah mengalami penguraian bahan organik yang ketara. Kaedah ini dijangka memberikan hasil yang lebih tepat dalam pengasingan dan pencirian mikroplastik, terutama bagi mengkaji mikroplastik dalam sampel makanan yang telah diproses.

Oleh yang demikian, kajian ini akan membandingkan dua kaedah pengekstrakan mikroplastik iaitu dengan menggunakan larutan 10% KOH dan air suling dalam meneliti kehadiran mikroplastik pada 5 jenis sampel budu yang telah dipilih. Seterusnya pencirian ke atas zarah mikroplastik akan dijalankan dengan melakukan penelitian secara visual menggunakan mikroskop digital. Zarah mikroplastik yang ditemui akan dikategorikan berdasarkan ciri fizikal seperti saiz, bentuk dan warna. Pencetakan identiti kimia bagi mikroplastik yang diperolehi pula akan dijalankan menggunakan spektroskopi Raman, manakala pengenalpastian terhadap komposisi unsur kimia bagi setiap zarah mikroplastik akan dianalisis menggunakan FESEM/EDX.

## BAHAN DAN KAEDAH KAJIAN

### BAHAN

Sebanyak lima jenama budu yang berlainan (Budu Selera Kampung Cap Ketereh, Budu Selera Kampung Cap Durian, Budu Selera Kampung Cap Petai, Budu Cap Ketereh, Budu Sedap No. 1 Kelate) telah diperolehi daripada sebuah pasar yang terletak di sekitar Kuala Krai, Kelantan. Kalium hidroksida (KOH) berbentuk pelet dibekalkan daripada Merck (Darmstadt, Germany). 10% larutan KOH disediakan dengan melarutkan 10 g pelet KOH ke dalam air suling (1:10 w/v) bagi kegunaan pengekstrakan sampel budu (Karami et al. 2017a). Akhir sekali, sampel tisu yang terurai akan dituras dengan menggunakan kertas turas jenis *GF/B glass microfiber* (saiz liang: 1.6  $\mu\text{m}$ , *Whatmann*).

## PENCEGAHAN KONTAMINASI

Bagi mengelakkan sebarang kontaminasi pada bahan uji kaji, sampel budu yang dibeli ditutup dengan rapat di dalam bungkusan asal semasa pembelian dan disimpan di dalam bekas kedap udara untuk mengelakkan kontaminasi luaran. Semasa kajian dijalankan, kesemua perkakasan alat radas juga dibasuh menggunakan air suling dan sabun sebelum dibersihkan menggunakan larutan etanol (70%). Baju makmal, sarung tangan nitril dan topeng muka dipakai sepanjang menjalankan kerja-kerja makmal. Peralatan seperti *penjepit* dan kertas turas *GF/B mikrofiber kaca* diperhatikan di bawah mikroskop digital (*Dino-Lite, USA* yang dilengkapi dengan perisian *DinoXcope*, versi 1.20.4) terlebih dahulu bagi mengelakkan hasil kajian berlaku ralat disebabkan oleh kontaminasi yang seakan-akan menyerupai mikroplastik. Alat radas yang belum digunakan ditutup menggunakan kerajang aluminium dan permukaan meja juga turut dilap dengan etanol sebelum memulakan prosedur kajian. Akhir sekali, pengulangan sampel dilakukan sebanyak tiga kali bagi setiap jenis budu untuk mengelakkan kontaminasi dan ketepatan hasil kajian. Tiga sampel rujukan yang mengandungi larutan KOH juga disediakan bagi mengenal pasti kontaminasi yang berkemungkinan berpunca daripada alat radas atau persekitaran makmal.

## PENGEKSTRAKAN MIKROPLASTIK

Untuk mengekstrak mikroplastik daripada budu, kajian ini membandingkan kaedah pengekstrakan mikroplastik dengan menggunakan 10% larutan kalium hidroksida (KOH) dan air suling (1:10 w/v) (Thiele, Hudson & Russell 2019). Sejumlah 10 mL isi padu bagi setiap budu dilarutkan ke dalam 100 mL kelalang *Erlenmeyer DURAN (Schott, Germany)* yang mengandungi larutan KOH (10% w/v) dan sebanyak 10 mL larutan budu yang lain dilarutkan ke dalam air suling, setiap larutan menggunakan nisbah 1:10 (Karami et al. 2017a). Kelalang *Erlenmeyer* yang mengandungi campuran larutan tersebut kemudiannya ditutup menggunakan parafilm dan digoncang sedikit sehingga kesemua bahan terlarut dengan sempurna. Setiap sampel yang diekstrak seterusnya diinkubasi pada suhu 40 °C selama 72 jam bagi mempercepatkan kadar pengekstrakan sampel (Karami et al. 2017b). Seterusnya, kesemua sampel yang ditapis menggunakan penapis keluli tahan karat (saiz; 500 µm, 150 µm, dan 63 µm) akan dituras lagi dengan menggunakan kaedah penurasan secara vakum melalui kertas turas jenis *GF/B mikrofiber kaca* (saiz liang: 1.6 µm) yang dilekatkan pada pam vakum (Desforges et al. 2014; Jaafar et al. 2020). Kertas turas kemudiannya diletakkan di dalam piring Petri dan dikeringkan semalaman di dalam oven pada suhu 40 °C sebelum pencirian ke atas mikroplastik dijalankan.

## PENCIRIAN MIKROPLASTIK

### PENGECAMAN SECARA VISUAL

Pengecaman dan pencirian secara visual bagi zarah mikroplastik dijalankan menggunakan mikroskop digital (*Dino-Lite, USA*, yang dilengkapi dengan perisian *DinoXcope*, versi 1.20.4) dan zarah mikroplastik yang ditemui dikategorikan berdasarkan ciri morfologi seperti bentuk, saiz dan juga warna. Pengecaman dilakukan secara teliti dan '*hot-needle test*' juga digunakan untuk membezakan mikroplastik dan bahan organik lain (Joyce & Falkenberg 2022; Yang Hwi, Shuaib Ibrahim & Wan Mohd Khalik 2020). Zarah mikroplastik dibahagikan kepada beberapa bentuk seperti pelet (berbentuk bulat), buih (tekstur berspan, zarah ringan), fragmen (bentuk tidak sekata, permukaan tidak rata), fiber (nipis, lurus, berbentuk silinder) dan filem (satah nipis) (Hartmann et al. 2019; Lusher et al. 2020). Manakala saiz bagi setiap mikroplastik diasingkan mengikut empat julat ukuran iaitu <0.063 - 0.1 mm, 0.1 - 0.5 mm, 0.5 - 1.0 mm dan 1.0 - 5.0 mm berdasarkan kaedah yang dicadangkan oleh Desforges et al. (2014).

### INDIKATOR MIKROPLASTIK (ID MP)

Sampel mikroplastik yang diperoleh akan dikategorikan dengan menggunakan sistem identiti mikroplastik (ID MP; x.y.z.) dengan x merupakan jenama budu (1- Budu Selera Kampung Cap Ketereh; 2- Budu Selera Kampung Cap Durian; 3- Budu Selera Kampung Cap Petai; 4- Budu Cap Ketereh; 5- Budu Sedap No. 1 Kelate), y pula jenis penggunaan larutan (1- Larutan 10% KOH; 2- Air suling) dan z adalah fraksi saiz turasan (1- 500 µm; 2- 150 µm; 3- 63 µm) di mana sampel mikroplastik ditemukan.

### SPEKTROSKOPI RAMAN

Dua sampel mikroplastik berbentuk fiber berwarna biru dan hitam telah dipilih untuk dianalisis menggunakan spektroskopi Raman. Sampel telah dianalisis pada julat 150 hingga 3400 cm<sup>-1</sup> anjakan *Raman* menggunakan mikroskop *Raman DXR (DXR2Xi, Thermo Scientific)* yang dilengkapi dengan pengesan peranti caj terganding (CCD). Analisis spektroskopi Raman ke atas sampel menggunakan 532 nm spektrafizik *argon-ion laser* dan kuasa alur *laser* yang digunakan pula adalah maksimum 3.7 mW untuk mengelakkan berlaku kerosakan pada sampel. Tompok *laser* difokuskan secara berturut-turut pada sudut atau kawasan yang berbeza bagi setiap zarah untuk mengenal pasti kehomogenan sampel (Collard et al. 2017). Data spektrum dan imej *Raman* yang diperoleh dianalisis menggunakan *OMNIC Spectra Software (Thermo Scientific)* yang membenarkan penilaian dan penolakan latar belakang spektrum.

#### MORFOLOGI PERMUKAAN (FESEM/EDX)

Bagi mengesan zarah bukan plastik dan melakukan saringan berdasarkan ciri unsur dan ciri permukaan pada zarah, Pancaran Medan Mikroskopi Elektron Pengimbasan (FESEM) (*Carl Zeiss Merlin Compact, Germany*) dengan analisis Tenaga Serakan Sinar-x (EDX) dijalankan ke atas sampel. Sampel mikroplastik (Jumlah, n=3) telah dipilih dan dipasang pada karbon pelekat dua sisi pada stub aluminium dan disaluti dengan lapisan emas (Au) yang sangat nipis menggunakan instrumen percikan ion untuk meningkatkan kualiti gambaran imej SEM. Sampel kemudian diimbas pada 50 sehingga 1000 x magnifikasi dengan menggunakan pengesan elektron berselerak belakang (BSE). Dengan ini komposisi unsur pada permukaan mikroplastik dapat dikesan secara kualitatif.

#### ANALISIS STATISTIK

Semua analisis statistik dilakukan menggunakan perisian SPSS Statistics (IBM, Versi 25). Data diuji untuk normaliti dan homogeniti menggunakan ujian Levene dan Shapiro-Wilk dan ujian non-parametrik telah dipilih mengikut kesesuaian. Perbezaan antara kepekatan mikroplastik dan ciri-ciri fizikal mikroplastik diuji melalui ujian non-parametrik kruskall-Wallis. Perbezaan antara kumpulan ditentukan apabila tahap kebarangkalian,  $p < 0.05$ .

#### KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

##### KEBERKESANAN KAEDAH PENGEKSTRAKAN MIKROPLASTIK

Perbandingan antara dua kaedah pengekstrakan mikroplastik menggunakan larutan 10% KOH dan air suling jelas menunjukkan bahawa 10% larutan KOH adalah lebih berkesan berbanding menggunakan air suling berdasarkan ciri keterlarutan yang ditunjukkan pada campuran sampel budu. Rajah 1 menunjukkan tahap keterlarutan yang lebih tinggi pada larutan sampel menggunakan larutan 10% KOH manakala penggunaan air suling menunjukkan ketidaklarutan walaupun daya telah dikenakan dengan beberapa goncangan semasa proses penguraian. Kajian ini menunjukkan bahawa, penggunaan air suling sahaja tidak mencukupi untuk mengekstrak mikroplastik daripada sampel budu tanpa penggunaan agen penghadam tambahan. Walaupun kajian yang dilakukan oleh Zhang et al. (2018) telah menunjukkan keberkesanannya dalam memisahkan mikroplastik daripada sampel tanah, namun pada umumnya tanah mempunyai bahan organik yang lebih kecil berbeza dengan budu yang mengandungi bahan organik yang kompleks seperti protein, lipid dan karbohidrat. Bahan organik ini tidak larut sepenuhnya dalam air suling dan boleh mengganggu proses pengekstrakan mikroplastik (Möller, Löder & Laforsch 2020). Oleh yang demikian, penggunaan larutan KOH adalah perlu kerana ia mempunyai sifat penghidroksisa (OH-) yang kuat dan mampu untuk

merombak struktur kimia bahan biologi atau organik, maka proses pengasingan mikroplastik akan berlaku dengan lebih berkesan (Thiele, Hudson & Russell 2019). Kühn et al. (2017) juga telah membuktikan kecekapan larutan 10% KOH dalam kajiannya bagi mengekstrak zarah mikroplastik daripada sampel perut dan usus ikan spesies *Sprattus sprattus* dengan melarutkan sampel tersebut menggunakan larutan KOH dan larutan ini menunjukkan tahap keterlarutan sampel yang tinggi. Oleh yang demikian, larutan 10% KOH menunjukkan tahap keberkesanan yang tinggi berbanding air suling.

#### ANALISIS PENELITIAN MIKROPLASTIK SECARA VISUAL

Jadual 1 menunjukkan kesemua jenis mikroplastik (n=19) yang ditemui pada sampel budu yang dikaji. Sampel budu Selera Kampung Cap Ketereh menunjukkan kehadiran zarah mikroplastik terbanyak (n=5) berbanding sampel yang lain. Sampel budu Selera Kampung Cap Durian dan Budu Cap Ketereh pula menunjukkan kadar pengumpulan mikroplastik yang paling sedikit (n=3), manakala sampel budu Selera Kampung Cap Petai dan Budu Sedap No. 1 Kelate pula menunjukkan kadar kehadiran mikroplastik yang sama daripada setiap sampel (n=4). Kehadiran mikroplastik daripada kelima-lima jenis budu tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan walaupun proses pembuatan budu berbeza mengikut jenama ( $p > 0.05$ ). Oleh yang demikian, kehadiran mikroplastik dalam kesemua jenis budu yang diuji adalah seragam dan tidak dipengaruhi oleh variasi dalam proses pembuatan mengikut jenama. Ini menunjukkan sumber pencemaran mikroplastik pada sampel budu boleh dipengaruhi oleh faktor luar. Antaranya termasuklah persekitaran tempat ikan bilis ditangkap atau cara pengendalian bahan mentah. Tambahan pula, kajian yang dilakukan oleh Karami et al. (2017b) melaporkan bahawa ikan bilis yang telah ditangkap di Malaysia juga tercemar dengan kehadiran mikroplastik. Lebih-lebih lagi zarah mikroplastik yang dijumpai lebih banyak terkumpul di dalam kandungan saluran penghadaman ikan bilis (Collard et al. 2017; Ningrum, Patria & Sedayu 2019) yang mungkin tidak dibuang semasa proses pembuatan budu itu sendiri. Tambahan pula, kajian terdahulu yang dijalankan ke atas ikan bilis yang ditangkap di Malaysia turut menunjukkan kadar kehadiran mikroplastik yang serupa, iaitu dua zarah mikroplastik pada setiap ekor ikan bilis (Karami et al. 2017a). Oleh yang demikian, hal ini perlulah diberi perhatian kerana ia menunjukkan adanya risiko pencemaran mikroplastik dalam makanan yang merupakan sebahagian daripada diet harian sesetengah masyarakat Malaysia.

Dalam pada itu, ciri fizikal seperti saiz, bentuk dan warna juga dikaji bagi membantu mengenal pasti sumber pencemaran mikroplastik dan kesannya kepada alam sekitar (Ahmed et al. 2021; Smith et al. 2018). Kajian ini menemukan sebanyak tujuh daripada zarah mikroplastik

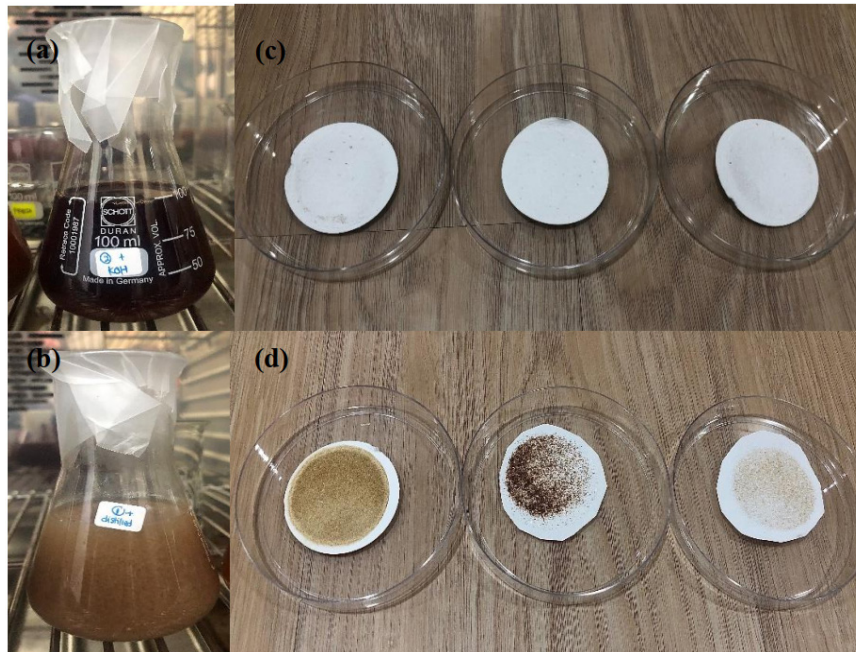
yang ditemui mempunyai julat saiz antara 0.1 sehingga 0.5 mm, manakala hanya dua zarah mikroplastik yang ditemui mempunyai julat saiz yang paling kecil iaitu < 0.01 sehingga 0.1 mm pada budu jenama Cap Ketereh dan budu Sedap No. 1 Kelate. Mengikut kajian lepas, saiz mikroplastik penting untuk menilai kesannya kerana saiz mikroplastik mempunyai impak yang signifikan ke atas organisma (Agamuthu et al. 2019; Critchell & Hoogenboom 2018; Phuong et al. 2018). Walau bagaimanapun, tiada perbezaan yang signifikan untuk saiz mikroplastik yang ditemui di dalam kesemua sampel budu ( $p > 0.05$ ). Kajian ini mendapati bahawa saiz mikroplastik dalam julat yang paling kecil adalah yang paling banyak ditemui. Ini menambahkan kebimbangan kerana mikroplastik dengan saiz yang lebih kecil cenderung untuk berinteraksi dengan bahan pencemar toksik seperti polibrominated difenil eter (PBDE), logam berat dan PCBs ia mempunyai kesan yang lebih besar terhadap organisma terutamanya pada peringkat sel (Fu et al. 2021; Godoy et al. 2019). Plastik dengan saiz <1 mm mampu menembusi penghalang sel dan melepasi saluran penghadaman atau insang sehingga meninggalkan kesan buruk seperti kerosakan oksidatif, kesuburan dan tindak balas imun terhadap organisma (Muhammad Husin et al. 2021; Revel et al. 2020).

Seterusnya, kajian mendapati sebahagian besar zarah mikroplastik yang ditemui pada kelima-lima sampel budu

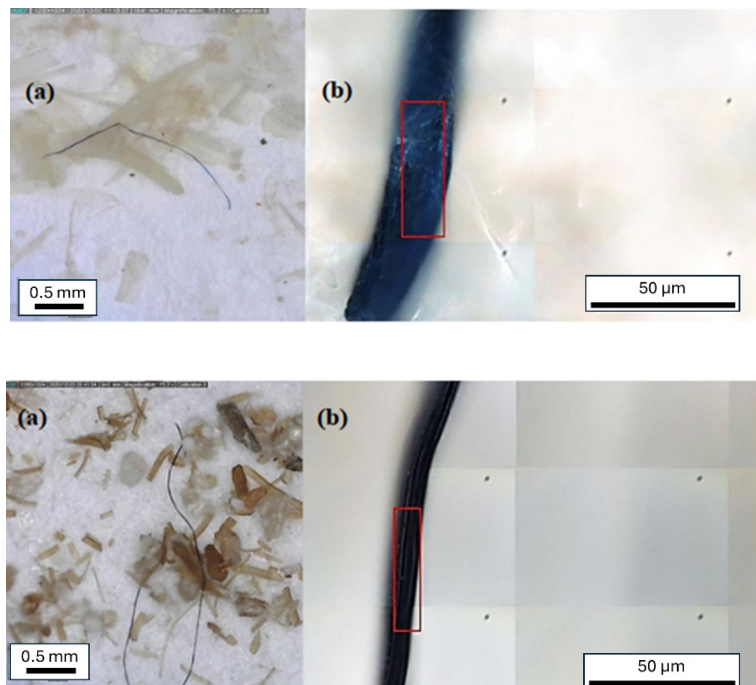
adalah berbentuk fiber (78.95%,  $n=15$ ) dan sebahagian yang lainnya masing-masing mempunyai nilai peratusan yang sama (10.53%,  $n=2$ ) merupakan mikroplastik berbentuk fragmen dan pelet dan tiada perbezaan yang signifikan ditemukan ( $p > 0.05$ ). Mikroplastik yang didominasi oleh bentuk fiber berkemungkinan tinggi berpunca daripada penguraian tekstil dan pakaian atau tali pancing yang diperbuat daripada bahan sintetik seperti nilon. Bentuk fiber yang panjang boleh disalahertikan oleh haiwan laut dan menganggap sebagai sebahagian daripada makanan (Granek, Brander & Holland 2020). Seterusnya, warna mikroplastik juga dikaji sebagai salah satu cara untuk mengenal pasti asal usul, pola pemakanan organisma dan potensi mikroplastik terhadap pemakan. Kajian ini mendapati peratusan tertinggi didominasi oleh zarah mikroplastik yang berwarna hitam (42.11%), manakala zarah dengan warna biru adalah kedua tertinggi (26.32%), zarah berwarna merah pula adalah 21.05% dan peratusan yang terendah iaitu pada 5.26% adalah zarah yang berwarna putih dan coklat. Walaupun tiada perbezaan signifikan yang ditemui namun plastik berwarna yang dilaporkan boleh mengandungi logam toksik yang biasanya dicampurkan sebagai agen pewarna tak organik semasa proses pembuatan plastik (Ambrogi et al. 2017; Collard et al. 2015). Ini mungkin menimbulkan risiko tambahan terhadap alam sekitar dan organisma.

JADUAL 1. Data terkumpul bagi zarah mikroplastik

Jenama	ID MP (x.y.z)	Bentuk	Warna	Saiz (mm)
Budu Selera Kampung Cap Ketereh	1.1.1	Fiber	Hitam	1.0-5.0
	1.1.2	Fiber	Biru	1.0-5.0
	1.1.3	Fiber	Biru	0.1-0.5
	1.2.2	Fiber	Merah	0.1-0.5
	1.2.3	Fiber	Hitam	0.5-1.0
Budu Selera Kampung Cap Durian	2.1.1	Fiber	Hitam	1.0-5.0
	2.1.2	Fiber	Merah	0.1-0.5
	2.2.2	Fiber	Hitam	1.0-5.0
Budu Selera Kampung Cap Petai	3.1.1	Fiber	Putih	1.0-5.0
	3.1.2	Fiber	Biru	0.5-1.0
	3.1.3	Fragmen	Hitam	0.1-0.5
	3.2.2	Fiber	Merah	0.1-0.5
Budu Cap Ketereh	4.1.3	Fiber	Biru	<0.01-0.1
	4.2.1	Fragmen	Hitam	1.0-5.0
Budu Sedap No. 1 Kelate	4.2.2	Fiber	Hitam	0.5-1.0
	5.1.2	Fiber	Biru	0.5-1.0
	5.1.3	Pelet	Hitam	0.1-0.5
	5.2.2	Pelet	Coklat	0.1-0.5
	5.2.3	Fiber	Merah	<0.01-0.1



RAJAH 1. a) Sampel yang dilarutkan dengan 10% KOH (b) Sampel yang dilarutkan dengan air suling (c) Warna jernih pada kertas turas sampel yang dilarutkan dengan 10% KOH dan (d) Warna keperangan pada kertas turas zarah sampel yang dilarutkan dengan air suling



RAJAH 2. Imej visual mikroplastik berbentuk fiber berwarna biru (ID MP; 1.1.2) dan hitam (ID MP; 2.2.2) dengan (a) imej ditangkap menggunakan *Dino-lite* dan (b) imej daripada Raman spektroskopi

## ANALISIS SPEKTROSKOPI RAMAN

Bagi menyokong teknik pencirian mikroplastik yang dilakukan secara visual, analisis spektroskopi Raman dijalankan ke atas beberapa sampel bagi mengenal pasti jenis polimer mikroplastik yang ditemui di dalam sampel budu. Rajah 2 menunjukkan sampel yang dipilih bagi menjalani analisis Raman merupakan zarah mikroplastik yang terdiri daripada mikroplastik berbentuk fiber yang berwarna biru (ID MP; 1.1.2) dan juga hitam (ID MP; 2.2.2). Spektrum Raman yang diperoleh daripada kedua-dua sampel mikroplastik menunjukkan ciri spektrum daripada polimer sintetik iaitu nilon yang dikenali sebagai poliamida (PA) berdasarkan ciri spektrum yang diperoleh daripada kajian awal terhadap pencirian spektroskopi Raman terhadap mikroplastik (Karami et al. 2017b; Milani 2015).

Spektrum Raman pada Rajah 3 merujuk kepada puncak pada  $1625\text{ cm}^{-1}$  bagi spektrum mikroplastik jenis fiber berwarna biru yang diwakili oleh jalur spektrum Amida I yang terhubung dengan getaran C=O daripada kumpulan karbonil, manakala puncak bagi getaran Amida I (C=O) bagi sampel mikroplastik fiber berwarna hitam dapat dilihat mengalami sedikit anjakan pada  $1686\text{ cm}^{-1}$ . Puncak bagi kedua-dua spektrum ini diyakini sebagai puncak bagi Amida I (C=O) berdasarkan nilai puncak Amida I (C=O) yang diperoleh jalur spektrum nilon. Perubahan pada spektrum mungkin berlaku akibat daripada pendedahan secara berterusan kepada plastik selepas terdedah kepada persekitaran akuatik.

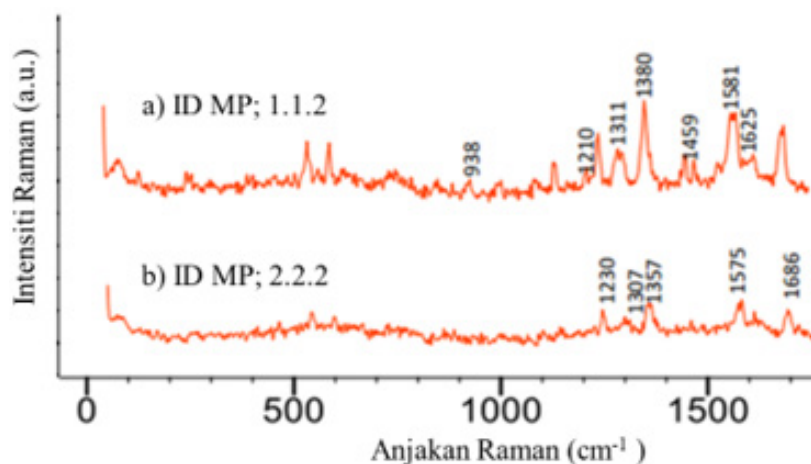
Jalur spektrum bagi Amida III (C-N regang dan N-H bengkok) bagi fiber berwarna biru berada pada puncak  $1581\text{ cm}^{-1}$  manakala bagi fiber berwarna hitam pula puncak Amida III adalah pada  $1307\text{ cm}^{-1}$ . Bagi spektrum Nilon 6, perwakilan puncak Amida II jelas berada pada  $1281$

$\text{cm}^{-1}$  dengan nilai bagi puncak ini dilihat hampir sama dengan nilai puncak Amida III bagi kedua-dua fiber (Rajah 3). Seterusnya puncak pada  $1210\text{ cm}^{-1}$  bagi spektrum mikroplastik fiber berwarna biru mewakili N-H wagging, manakala jalur N-H wagging pada fiber berwarna hitam sedikit teranjak kepada  $1230\text{ cm}^{-1}$ . Oleh yang demikian, disebabkan ciri spektrum Raman yang diperoleh pada kedua-dua fiber memiliki ciri yang hampir sama dengan nilon, kajian mendapati bahawa budu yang diperoleh di pasar Kuala Krai tercemar dengan mikroplastik jenis nilon yang sering digunakan untuk menghasilkan tekstil ataupun digunakan sebagai tali pancing.

## ANALISIS FESEM/EDX

Seterusnya sampel dianalisis dengan menggunakan Pancaran Medan Mikroskopi Elektron Pengimbasan (FESEM) bagi melihat struktur permukaan dan morfologi mikroplastik dengan resolusi yang lebih tinggi. Penambahan analisis iaitu *Energy-dispersive X-ray spectroscopy* (EDX) juga dikaji bagi mendapatkan komposisi unsur setiap zarah dengan tujuan untuk mengkaji kehadiran bahan tak organik yang berbahaya pada permukaan mikroplastik. Rajah 4 mewakili imej FESEM yang diperoleh bagi salah satu sampel zarah mikroplastik yang menunjukkan rekahan berlaku pada permukaan sampel.

Spektra EDX bagi zarah fiber (ID MP; 1.2.2) yang menunjukkan kehadiran unsur lain hanya menunjukkan puncak tinggi bagi karbon (C) dan puncak rendah bagi oksigen (O) (Rajah 5). Spektra ini jelas menunjukkan ketekalan yang berpadanan dengan hasil pencirian spektroskopi Raman bagi polimer sintetik jenis PA yang memiliki unsur utama iaitu C dan O. Unsur lain seperti nitrogen (N) adalah sukar untuk dianalisis oleh FESEM/

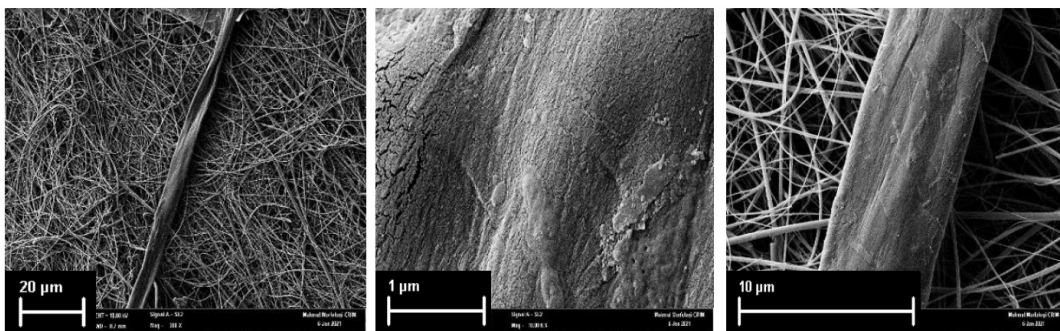


RAJAH 3.  $\text{cm}^{-1}$  Spektrum Raman bagi (a) mikroplastik jenis fiber berwarna biru, manakala (b) mikroplastik jenis fiber berwarna hitam

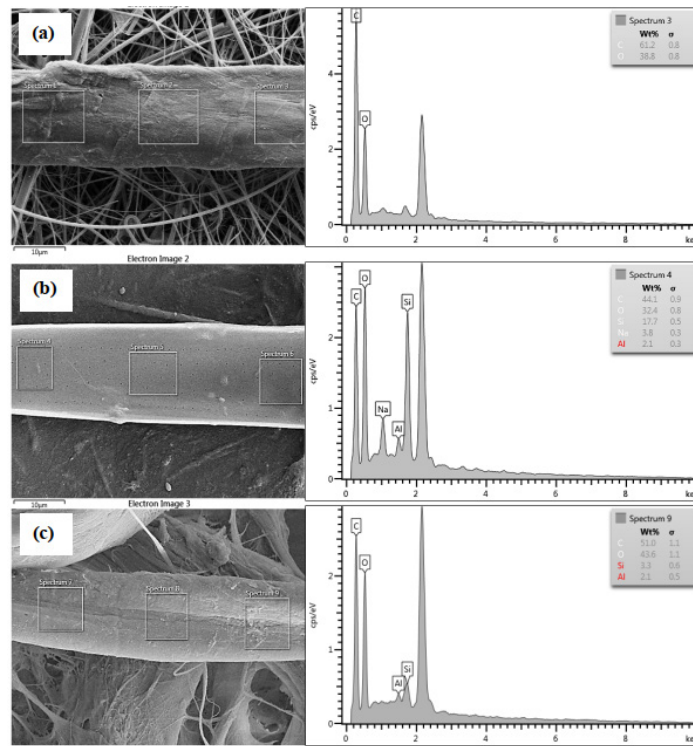
EDX disebabkan ia menghasilkan tindak balas yang lemah dan menyebabkan pengesanan melalui EDX tidak dapat didedahkan. Spektra EDX bagi zarah fiber (ID MP; 2.1.1) pula memperlihatkan beberapa pertambahan unsur yang berbeza seperti silikon (Si), natrium (Na) dan aluminium (Al).

Kehadiran unsur ini boleh dikaitkan dengan beberapa faktor penting yang mendorong kepada kewujudan unsur Si, Na, dan Al seperti penggunaan aditif dan pigmen sewaktu pembuatan plastik atau ia terjepap ke atas permukaan plastik daripada persekitaran luar, penggunaan bahan pelekat plastik dan bukan plastik atau zarah yang dianalisis tersebut

berkemungkinan merupakan zarah bukan plastik seperti diatom, serpihan cengkerang atau abu arang batu. Unsur Si yang menunjukkan puncak yang tinggi memperlihatkan kebarangkalian zarah tersebut terkontaminasi sama ada berpunca daripada kawasan permukaan zarah itu sendiri atau daripada persekitaran luar. Spektra EDX bagi zarah fiber (ID MP; 2.1.2) menunjukkan unsur tambahan seperti Al dan Si namun kedua-dua unsur tersebut memperlihatkan puncak yang kecil berbanding puncak bagi unsur C dan O. Hal ini menunjukkan bahawa kepekatan bagi kedua-dua unsur ini adalah rendah dan berkemungkinan berpunca secara natural dalam persekitaran akuatik.



RAJAH 4. Imej FESEM bagi mikroplastik yang menunjukkan rekahan yang berlaku pada permukaan mikroplastik jenis fiber



RAJAH 5. Analisis FESEM/EDX bagi (a) mikroplastik fiber 1.2.2, (b) fiber 2.1.1, dan (c) mikroplastik fiber 2.1.2



## KESIMPULAN

Kajian ini mendapati bahawa penggunaan air suling tidak sesuai untuk mengekstrak mikroplastik daripada sampel makanan yang diproses seperti budu disebabkan oleh kehadiran bahan organik yang kompleks. Penggunaan larutan kimia tambahan seperti KOH adalah perlu untuk menguraikan bahan organik bagi memudahkan proses pengenalpastian mikroplastik. Kajian ini juga melaporkan kehadiran mikroplastik yang sedikit berbanding kajian lepas yang mengkaji kehadiran mikroplastik di dalam ikan bilis itu sendiri. Walaupun kajian ini melaporkan tiada perbezaan yang signifikan dalam ciri fizikal mikroplastik yang dikaji namun ini boleh dijadikan sebagai rujukan awal untuk mengawal pencemaran mikroplastik dalam pemprosesan makanan. Ujian Raman menunjukkan mikroplastik jenis nilon yang terbuang ke dalam laut boleh berakhir dan memasuki rantai makanan. Manakala, hasil penyelidikan daripada FESEM/EDX menunjukkan bentuk mikroplastik yang telah terdegradasi serta kehadiran logam berat dalam mikroplastik berpotensi memberi impak yang lebih serius kepada kesihatan manusia.

## PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi penghargaan dan terima kasih kepada kakitangan makmal di jabatan kimia, Fakulti Sains dan Teknologi serta Universiti Kebangsaan Malaysia atas sokongan, bantuan dan bimbingan sepanjang tempoh kerja makmal dijalankan.

## RUJUKAN

- Agamuthu, P., Mehran, S.B., Norkhairah, A. & Norkhairiyah, A. 2019. Marine debris: A review of impacts and global initiatives. *Waste Management and Research* 37(10): 987-1002.
- Ahmed, M.B., Rahman, M.S., Alom, J., Hasan, M.S., Johir, M.A.H., Mondal, M.I.H., Lee, D.Y., Park, J., Zhou, J.L. & Yoon, M.H. 2021. Microplastic particles in the aquatic environment: A systematic review. *Science of the Total Environment* 775: 145793.
- Ambrogio, V., Carfagna, C., Cerruti, P. & Marturano, V. 2017. Additives in polymers. In *Modification of Polymer Properties*, edited by Jasso-Gastinel, C.F. & Kenny, J.M. Norwich: William Andrew Publishing. hlm. 87-108.
- Anon. 2024. Budu Cap Ketereh: Pengeluar Budu Terbesar di Malaysia. *Kelantan Click*.
- Arthur, C., Baker, J. & Bamford, H. 2009. *Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris*, September 9-11, 2008, University of Washington Tacoma, Tacoma, WA, USA.
- Bakir, A., Rowland, S.J. & Thompson, R.C. 2014. Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution* 185: 16-23.
- Borges-Ramírez, M.M., Mendoza-Franco, E.F., Escalona-Segura, G. & Rendón von-Osten, J. 2020. Plastic density as a key factor in the presence of microplastic in the gastrointestinal tract of commercial fishes from Campeche Bay, Mexico. *Environmental Pollution* 267: 115659.
- Carpenter, E.J., Anderson, S.J., Harvey, G.R., Miklas, H.P. & Peck, B.B. 1972. Polystyrene spherules in coastal waters. *Science* 178(4062): 749-750.
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C. & Galloway, T.S. 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* 62(12): 2588-2597.
- Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., Das, K., Jauniaux, T. & Parmentier, E. 2017. Microplastics in livers of European anchovies (*Engraulis encrasicolus*, L.). *Environmental Pollution* 229: 1000-1005.
- Collard, F., Gilbert, B., Eppe, G., Parmentier, E. & Das, K. 2015. Detection of anthropogenic particles in fish stomachs: An isolation method adapted to identification by Raman spectroscopy. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 69(3): 331-339.
- Critchell, K. & Hoogenboom, M.O. 2018. Effects of microplastic exposure on the body condition and behaviour of planktivorous reef fish (*Acanthochromis polyacanthus*). *PLoS ONE* 13(3): e0306682.
- Desforges, J.P.W., Galbraith, M., Dangerfield, N. & Ross, P.S. 2014. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin* 79(1-2): 94-99.
- Ding, J., Sun, C., Li, J., Shi, H., Xu, X. & Ju, P. 2022. Microplastics in global bivalve mollusks: A call for protocol standardization microplastics in global bivalve mollusks: A call for protocol standardization. *Journal of Hazardous Materials* 438: 129490.
- Fu, L., Li, J., Wang, G., Luan, Y. & Dai, W. 2021. Adsorption behavior of organic pollutants on microplastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 217: 112207.
- Godoy, V., Blázquez, G., Calero, M., Quesada, L. & Martín-Lara, M.A. 2019. The potential of microplastics as carriers of metals. *Environmental Pollution* 255(Part 3): 113363.
- Granek, E.F., Brander, S.M. & Holland, E.B. 2020. Microplastics in aquatic organisms: Improving understanding and identifying research directions for the next decade. *Limnology and Oceanography Letters* 5(1): 1-4.

- Hartmann, N.B., Hüffer, T., Thompson, R.C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A.E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M.P., Hess, M.C., Ivleva, N.P., Lusher, A.L. & Wagner, M. 2019. Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environmental Science and Technology* 53(3): 1039-1047.
- Jaafar, N., Musa, S.M., Azfaralariff, A., Mohamed, M., Yusoff, A.H. & Lazim, A.M. 2020. Improving the efficiency of post-digestion method in extracting microplastics from gastrointestinal tract and gills of fish. *Chemosphere* 260: 127649.
- Joyce, P.W.S. & Falkenberg, L.J. 2022. Microplastic abundances in co-occurring marine mussels: Species and spatial differences. *Regional Studies in Marine Science* 57: 102730.
- Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C.K., Romano, N., Ho, Y.B. & Salamatinia, B. 2017. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment* 578: 485-494.
- Karami, A., Golieskardi, A., Ho, Y.B., Larat, V. & Salamatinia, B. 2017. Microplastics in eviscerated flesh and excised organs of dried fish. *Scientific Reports* 7: 5473.
- Kühn, S., van Werven, B., van Oyen, A., Meijboom, A., Bravo Rebollo, E.L. & van Franeker, J.A. 2017. The use of potassium hydroxide (KOH) solution as a suitable approach to isolate plastics ingested by marine organisms. *Marine Pollution Bulletin* 115(1-2): 86-90.
- Lusher, A.L., Bråte, I.L.N., Munno, K., Hurley, R.R. & Natalie, A. 2020. Is it or isn't it: The importance of visual classification in. *Applied Spectroscopy* 74(9): 1139-1153.
- Milani, A. 2015. Unpolarized and polarized Raman spectroscopy of nylon-6 polymorphs: A quantum chemical approach. *Journal of Physical Chemistry B* 119(9): 3868-3874.
- Miller, E., Klasios, N., Lin, D., Sedlak, M., Sutton, R. & Rochman, C. 2019. *Microparticles, Microplastics, and PAHs in Bivalves in San Francisco Bay*. SFEI Contribution No. 976. Richmond: San Francisco Estuary Institute. hlm. 1-37.
- Mohamed, H.N., Man, Y.C., Mustafa, S. & Manap, Y.A. 2012. Tentative identification of volatile flavor compounds in commercial budu, a Malaysian fish sauce, using GC-MS. *Molecules* 17(5): 5062-5080.
- Möller, J.N., Löder, M.G.J. & Laforsch, C. 2020. Finding microplastics in soils: A review of analytical methods. *Environmental Science and Technology* 54(4): 2078-2090.
- Muhammad Husin, M.J., Mazlan, N., Shalom, J., Saud, S.N. & Abdullah Sani, M.S. 2021. Evaluation of microplastics ingested by sea cucumber *Stichopus horrens* in Pulau Pangkor, Perak, Malaysia. *Environmental Science and Pollution Research* 28(43): 61592-61600.
- Ningrum, E.W., Patria, M.P. & Sedayu, A. 2019. Ingestion of microplastics by anchovies from Talisayan harbor, East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Physics: Conference Series* 1402: 033072.
- Phuong, N.N., Poirier, L., Pham, Q.T., Lagarde, F. & Zalouk-Vergnoux, A. 2018. Factors influencing the microplastic contamination of bivalves from the French Atlantic coast: Location, season and/or mode of life? *Marine Pollution Bulletin* 129(2): 664-674.
- Pozo, K., Urbina, W., Gómez, V., Torres, M., Nuñez, D., Příbylová, P., Audy, O., Clarke, B., Arias, A., Tombesi, N., Guida, Y. & Klánová, J. 2020. Persistent organic pollutants sorbed in plastic resin pellet - "Nurdles" from coastal areas of Central Chile. *Marine Pollution Bulletin* 151: 110786.
- Ramasamy, B.S.S. & Palanisamy, S. 2021. A review on occurrence, characteristics, toxicology and treatment of nanoplastic waste in the environment. *Environmental Science and Pollution Research* 28(32): 43258-43273.
- Revel, M., Châtel, A., Perrein-Ettajani, H., Bruneau, M., Akcha, F., Sussarellu, R., Rouxel, J., Costil, K., Decottignies, P., Cognie, B., Lagarde, F. & Mouneyrac, C. 2020. Realistic environmental exposure to microplastics does not induce biological effects in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Pollution Bulletin* 150: 110627.
- Smith, M., Love, D.C., Rochman, C.M. & Neff, R.A. 2018. Microplastics in seafood and the implications for human health. *Current Environmental Health Reports* 5(3): 375-386.
- Sussarellu, R., Suquet, M., Thomas, Y., Lambert, C., Fabioux, C., Pernet, M.E.J., Goïc, N. Le, Quillien, V., Mingant, C., Epelboin, Y., Corporeau, C., Guyomarch, J., Robbens, J., Paul-Pont, I., Soudant, P. & Huvet, A. 2016. Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(9): 2430-2435.
- Thiele, C.J., Hudson, M.D. & Russell, A.E. 2019. Evaluation of existing methods to extract microplastics from bivalve tissue: Adapted KOH digestion protocol improves filtration at single-digit pore size. *Marine Pollution Bulletin* 142: 384-393.
- Yang Hwi, T., Shuaib Ibrahim, Y. & Wan Mohd Khalik, W.M.A. 2020. Microplastic abundance, distribution, and composition in Sungai Dungun, Terengganu, Malaysia. *Sains Malaysiana* 49(7): 1479-1490.

- Zhang, S., Yang, X., Gertsen, H., Peters, P., Salánki, T. & Geissen, V. 2018. A simple method for the extraction and identification of light density microplastics from soil. *Science of the Total Environment* 616-617: 1056-1065.
- Zhao, S., Danley, M., Ward, J.E., Li, D. & Mincer, T.J. 2017. An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy. *Analytical Methods* 9(9): 1470-1478.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: azwanlazim@ukm.edu.my