

DISTRIBUSI PLUMBUM, CADMIUM PADA BIJI KEDELAI, DAN DEPROTONASI GUGUS FUNGSIONAL KARBOKSIL ASAM SITRAT DALAM KHELASI

Distribution of Plumbum, Cadmium on Soybeans and Deprotonation of Carboxyl Functional Groups of Citric Acid in the Chelation

Sapto Priyadi¹, Purnama Darmadji², Umar Santoso², Pudji Hastuti²

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Tunas Pembangunan, Jl. Balekambang Lor No. 1 Surakarta 57139

²Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1, Bulaksumur

Yogyakarta 55281

Email: saptopriyadi@ymail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang distribusi plumbum, cadmium pada biji kedelai dan deprotonasi gugus fungsional karboksil asam sitrat dalam proses khelasi. Penelitian ini merupakan tahapan deprotonasi gugus fungsional karboksil asam sitrat, yaitu tinjauan secara kimiawi keaktifan (jumlah proton) gugus fungsional asam sitrat akibat perubahan pH lingkungan khelasi. Faktor penelitian meliputi ratio asam sitrat terhadap air yang terdiri dari tiga taraf 0,1:1, 0,2:1 dan 0,3:1 dengan pH lingkungan khelasi yang terdiri dari tiga taraf 5; 7,5 dan 10. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, akumulasi plumbum (Pb) pada jaringan kulit biji kedelai rerata $0,37 \pm 0,03$ ppm, sedangkan Pb pada jaringan kotiledon rerata $0,39 \pm 0,07$ ppm. Akumulasi cadmium (Cd) pada jaringan kulit biji kedelai rerata $0,02 \pm 0,004$ ppm sedangkan Cd pada jaringan kotiledon rerata $0,02 \pm 0,004$ ppm. Deprotonasi gugus fungsional *chelating agent* asam sitrat tertinggi $9,43 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ dicapai pada kondisi khelasi dengan ratio asam sitrat terhadap air 0,3:1 pada lingkungan khelasi pH 10 (A_3B_3). Keadaan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan ratio asam sitrat 0,2:1 dan 0,1:1 pada lingkungan khelasi pH 10.

Kata kunci: Kedelai, plumbum, cadmium dan deprotonasi

ABSTRACT

A study on the distribution of plumbum, cadmium on soybeans and deprotonation of carboxyl functional groups of citric acid in the chelation process. This study was deprotonation phase of carboxyl functional groups of citric acid as chelating agent, that was review chemically activity (protons number) functional group of citric acid was caused of chelation environment pH changes. Research factors were 1) ratios of citric acid with water, consists of three levels i.e. 0,1:1; 0,2:1 and 0,3:1 second factors was chelation environment pH, consists of three levels i.e. 5; 7.5 and 10. The results showed that, the plumbum (Pb) accumulation in seed coat tissue average value $0,37 \pm 0,03$ ppm, whereas Pb on cotyledon tissue average value $0,39 \pm 0,07$ ppm. Cadmium (Cd) accumulation in seed coat tissue average value was $0,02 \pm 0,004$ ppm while the Cd on cotyledon tissue average value $0,02 \pm 0,003$ ppm. The highest deprotonation of functional groups citric acid as chelating agent $9,43 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ was reached on chelation condition citric acid ratios with water 0,3:1 on chelation environment pH 10 (A_3B_3). The study result non significant difference with citric acid ratios with water 0,2:1 and 0,1:1 on chelation environment pH 10.

Keywords: Soybean, plumbum, cadmium and deprotonation

PENDAHULUAN

Keberhasilan pembangunan pertanian dan industri dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, terutama terhadap kualitas sumber daya lahan. Pencemaran logam berat pada lahan pertanian merupakan masalah lingkungan pada

umumnya, yang dapat mengurangi produktivitas tanaman dan keamanan produk sebagai pangan dan pakan (Zheljazkov dkk., 2006). Sumber utama logam berat pada tanaman adalah media pertumbuhan, sebagai larutan hara dan tanah. Sejauh mana tanaman menyerap logam, tergantung pada logam berat yang terdapat dalam tanah dan sumber lain termasuk

agrokimia (Ansari dkk., 2009). Akumulasi logam berat dalam tanah, risiko serapan oleh tanaman yang diikuti masuknya dalam rantai makanan, sekarang menjadi masalah keprihatinan yang besar (Lavado dkk., 2001). Tanaman mudah menyerap logam berat dari tanah dan mengangkutnya ke tunas (jaringan meristem), sehingga mencapai gizi manusia melalui rantai makanan (Drazic dan Mihailovic, 2005).

Menurut Charlena (2004) pupuk anorganik (golongan fosfat dan nitrat) mengandung logam berat Pb masing-masing 7 – 225 ppm dan 2 – 27 ppm, sedangkan kandungan Cd masing-masing 0,1 – 170 ppm dan 0,05 – 8,5 ppm. Apabila pupuk tersebut digunakan secara terus menerus dengan dosis dan intensitas yang tinggi dapat meningkatkan Pb dan Cd yang tersedia dalam tanah, sehingga meningkatkan serapan Pb dan Cd oleh tanaman (Charlena, 2004); diangkut melalui pembuluh *xylem* dan didistribusikan pembuluh *phloem* hingga mencapai biji (Mendoza-Co'zatl dkk., 2011).

Plumbum (Pb) dan cadmium (Cd) sangat beracun yang terakumulasi dalam sistem biologis dan memiliki waktu paruh yang panjang (Ansari dkk., 2009). Kadar Pb dan Cd yang tinggi berimplikasi terhadap kesehatan. Plumbum menyebabkan anemia dan defisiensi hemoglobin, disfungsi ginjal dan kerusakan otak (neuropathy). Cadmium dapat memotivasi demineralisasi tulang, meningkatkan kerapuhan tulang dan risiko fraktur, menyebabkan timbulnya anemia dan hipertensi, pada testis menyebabkan hiperplasia yang merupakan permulaan terjadinya kanker. Masuknya Pb dan Cd ke dalam makhluk hidup dapat melalui pangan dan air minum, inhalasi udara dan penetrasi melalui kulit (Balía dkk., 2005).

Logam berat yang ada di lingkungan tanah, air dan udara dengan suatu mekanisme dapat masuk kedalam makhluk hidup. Tanaman yang menjadi mediator penyebaran logam berat pada makhluk hidup, menyerap logam berat melalui akar dan daun (stomata). Pemanfaatan bagian tanaman sebagai bahan pangan bagi manusia dan pakan hewan menyebabkan berpindahnya logam berat yang dikandung oleh tanaman seperti timbal (Pb) dan cadmium (Cd) ke dalam tubuh makhluk hidup lainnya. Afinitas yang tinggi terhadap unsur sulfur menyebabkan logam menyerang ikatan belerang dalam enzim, sehingga enzim bersangkutan menjadi tak aktif. Logam berat yang masuk kedalam tubuh manusia akan melakukan interaksi antara lain dengan enzim, protein, DNA, serta metabolit lainnya. Adanya logam berat dalam tubuh jelas akan berpengaruh terhadap tubuh dan apabila jumlahnya berlebih, maka akan berbahaya bagi tubuh (Ullah, 2007).

Umumnya masuknya Cd dalam tanah pertanian disebabkan oleh aplikasi pupuk fosfat (Drazic dan Mihailovic, 2005). Apabila pupuk tersebut digunakan secara terus menerus dengan dosis dan intensitas yang tinggi dapat meningkatkan Pb dan Cd yang tersedia dalam tanah, sehingga meningkatkan serapan Pb dan Cd oleh tanaman (Charlena,

2004); diangkut melalui pembuluh *xylem* dan didistribusikan pembuluh *phloem* hingga mencapai biji dalam bentuk X-S-Cd (Mendoza-Co'zatl dkk., 2011).

Tanaman kedelai memiliki kapasitas yang besar untuk menyerap Cd tanah. Cadmium dalam jaringan tumbuhan berada dalam urutan akar > batang > daun. Keadaan tersebut menunjukkan arah perjalanan Cd dalam sistem tanah – tanaman. Lebih lanjut dijelaskan bahwa dengan penambahan Cd ke dalam media tanam 5 mg kg⁻¹ menyebabkan akumulasi Cd pada jaringan tanaman kedelai meningkat, yang secara berurutan kandungan (mg kg⁻¹) dalam akar 120,63±7,19, batang 88,40±4,33 dan daun 45,35±2,61 (Yong dkk., 2008). Hasil penelitian serupa tentang kandungan Cd dalam jaringan tanaman kedelai biji (*cotyledons*), yaitu sebelum dan sesudah perlakuan dengan penambahan Cd 3 mg kg⁻¹ ke dalam media tanam, masing-masing 48±5,2 mg kg⁻¹ dan 61±7,2 mg kg⁻¹ (Drazic dan Mihailovic, 2004).

Tanaman melakukan mekanisme toleransi penting yang bersifat induktif terhadap logam berat dengan mensintesis polipeptida pengikat logam, yaitu *phytochelatin* (Rascio dan Navari-Izzob, 2011). *Phytochelatin* (PC) adalah *cysteine* kaya polipeptida yang struktur umumnya (γGlu-Cys)₍₂₋₁₁₎-Gly, yang memainkan peran penting dalam detoksifikasi beberapa logam berat Cd, Cu, Zn, Hg, dan Pb dan Ar pada fungi, tanaman, nematoda dan organisme lain (Ramos dkk., 2007). *Phytochelatin* (PC) mengikat Cd⁺² dan membentuk kompleks yang berat molekulnya rendah (LMW), yang diangkut ke vakuola melalui tonoplast oleh ATP-binding-cassette (ABC) transporter. Di vakuola, kompleks-Cd (LMW) kemudian terakumulasi dengan Cd⁺² berlebih, yang masuk ke vakuola melalui pertukaran langsung dengan cation/proton exchanger (CAX) transporters membentuk kompleks Cd/S yang berat molekulnya tinggi (HMW) (Yang dan Chu, 2011).

Biji kedelai yang tercemar logam berat tersebut dengan menggunakan *chelating agent* (asam sitrat) dilakukan perbaikan kualitas melalui proses khelasi. Asam sitrat sebagai *chelating agent* memiliki tiga gugus fungsional karboksilat –COOH yang dapat melepas proton (H⁺) dalam larutan (Purwanto, 2012). Asam organik yang memiliki gugus fungsional karboksilat –COOH, hidroksil –OH phenolat maupun –OH alkoholit, mempunyai peluang untuk membentuk kompleks dengan ion logam (Ariyanto, 2006).

Khelasi menggunakan asam organik akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi pengkhelat. Tingginya konsentrasi materi organik larut air mampu menarik ion logam kembali ke air dan membentuk kompleks logam – ligan (Setiawan, 2008).

Deprotonasi adalah istilah kimia yang merujuk pada pelepasan sebuah proton (kation hidrogen H⁺) dari sebuah molekul, membentuk konjugat basa. Deprotonasi gugus-gugus fungsional asam humat akan menurunkan kemampuan

pembentukan ikatan hidrogen, baik antar molekul maupun sesama molekul dan meningkatkan jumlah muatan negatif gugus fungsional asam humat, sehingga akan meningkatkan gaya tolak-menolak antar gugus dalam molekul asam humat. Gugus fungsional adalah konfigurasi spesifik atom-atom yang umumnya berikatan dengan kerangka karbon molekul organik dan umumnya terlibat dalam reaksi kimiawi (Ariyanto, 2006).

Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksi $-COOH$ yang dapat melepas proton (H^+) dalam larutan. Ion H^+ pertama akan dilepas pada pH 3, H^+ kedua dilepas pada pH 7 dan H^+ ketiga dilepas pada pH 10. Proton sudah dilepas dalam larutan yang sangat asam. Dalam keadaan ini yang tersisa adalah ligan oksida, yang akan dilepaskan jika ion pusat tereduksi menjadi bervalensi yang lebih rendah (Purwanto, 2012).

Kapasitas tukar kation maksimum logam berat tergantung pada waktu kontak dan jenis logam. Menurut Shah dkk. (2008) kecepatan pertukaran ion logam, waktu yang diperlukan untuk pertukaran 50% logam Cd adalah 3 jam dan Pb : 48 menit. Menurut Sridhar dkk. (2009) waktu paruh untuk Pb setelah 20 menit dan Cd setelah 2 jam.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui distribusi plumbum (Pb) dan cadmium (Cd) pada jaringan anatomis biji kedelai serta untuk mengetahui jumlah proton yang terlepas (deprotonasi) pada aktivasi gugus fungsional karboksil. Aktivasi ini dilakukan dalam rangka memperbaiki kualitas biji kedelai yang tercemar Pb dan Cd, dengan maksud agar gugus fungsional tersebut menjadi aktif sebagai pseudo-penukar ion, yang mampu melepaskan Pb dan Cd dalam jerapan sistem biologis pada jaringan biji dan mengkhelatnya dengan ion sitrat $-COO^-$ membentuk kompleks ligan – logam di luar jaringan biji, sehingga Pb dan Cd pada biji bisa dieliminasi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama dan bahan kimia untuk analisis. Bahan utama berupa biji kedelai, asam sitrat sebagai *chelating agent*, H_2SO_4 , HCl, NaOH, HNO_3 , $HClO_4$, asam borat, indikator conway dan larutan standar Pb dan Cd.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *magnetic stirrer*, labu erlenmeyer, pH meter (CRISON PH 25), oven (MEMERT), penangas listrik dan *Atomic Absorption Spectrophotometer-flame* (AAS Jena ContrAA 300).

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan percobaan respon antar lokasi terkait dengan sistem budidaya terhadap profil

akumulasi plumbum (Pb) dan cadmium (Cd) pada biji kedelai (termasuk distribusinya pada jaringan biji). Biji kedelai diperoleh dari praktek kedua sistem budidaya, yang masing-masing lokasi dikendalikan oleh faktor lokal yang berbeda. Faktor pengendali lokal yang dimaksud antara lain pola tanam tahunan, musim tanam dan sejarah penggunaan lahan terkait dengan penggunaan agrokimia pada musim tanam sebelumnya. Tahapan berikutnya adalah perbaikan kualitas biji kedelai melalui teknologi khelasi logam berat, yang dilanjutkan dengan aktivasi gugus fungsional karboksil dari *chelating agent* (asam sitrat) yang disebut deprotonasi, dengan perlakuan pH lingkungan khelasi.

Persiapan pengujian akumulasi logam berat pada biji. Sebelum dilakukan pengujian akumulasi Pb dan Cd, sampel uji berupa biji kedelai direndam air untuk mempermudah lepasnya jaringan kulit biji (*seed coat*) dari kotiledonnya. Kedua jaringan biji tersebut merupakan sampel uji untuk diketahui akumulasi Pb dan Cd-nya. Sampel uji dilakukan destruksi basah dengan prosedur kerja sebagai berikut: a) sebanyak 5 gram bahan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer; b) ditambahkan 40 ml asam sitrat - perklorat (2:1); c) Erlenmeyer diletakkan di atas penangas listrik, suhunya diatur pada suhu rendah ($100\text{ }^\circ\text{C}$); setelah larutan dalam Erlenmeyer mulai mendidih (asap merah akan hilang); d) pemanasan dilanjutkan sampai air dan asam nitrat hilang; e) setelah reaksi antara sampel dengan asam perklorat sempurna (dapat diidentifikasi dengan hilangnya *effervescent*), digunakan pemanas yang tinggi ($170\text{ }^\circ\text{C}$) sampai jernih dan timbul asap putih. Dihindari pemanasan yang membuat sampel hingga mengering, karena akan terjadi letupan; f) Erlenmeyer diturunkan dari penangas listrik dan biarkan dingin; g) sampel yang telah didigesti dipindahkan ke dalam labu takar 25 ml dan ditambahkan aquades sampai batas tanda dan h) baca larutan dengan AAS-flame yang telah dikalibrasi sebelumnya. Preparasi dan pengukuran konsentrasi Pb dan Cd: a) pembuatan larutan baku Pb dan Cd ($100\mu\text{g per ml}$), yaitu dengan memipet 10 ml Pb atau Cd ke dalam labu ukur 100 ml; b) dengan larutan pengencer ditepatkan sampai tanda tera; c) larutan kerja dibuat dengan mengencerkan larutan induk Pb atau Cd ($100\mu\text{g per ml}$) hingga diperoleh kadar Pb atau Cd 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 dan $3,2\ \mu\text{g per ml}$; d) larutan kerja yang telah dipersiapkan diukur masing-masing dengan panjang gelombang untuk Pb = 217 nm dan Cd = 228 nm; e) kurva kalibrasi dibuat untuk mendapatkan garis regresi dan f) pengukuran sampel uji yang sudah dipersiapkan dilanjutkan. Perhitungan konsentrasi Pb atau Cd, yaitu dengan formula sebagai berikut: $C = A \times (25\text{ml}/B)$, dimana A = konsentrasi yang didapat dari hasil pengukuran, B = berat sampel dalam gram dan C = konsentrasi Pb atau Cd (Association of Official Analytical Chemist, 2005 dan Gonzales and Herrador, 2007).

Persiapan pengujian deprotonasi. Deprotonasi adalah istilah kimia yang merujuk pada pelepasan sebuah proton (H^+) dari sebuah molekul. Keaktifan gugus fungsional asam sitrat ditentukan dengan mengetahui jumlah total kation yang dapat dipertukarkan (kapasitas tukar kation) pada volume pengkhelet dan pH lingkungan khelasi. Kapasitas tukar kation asam sitrat yang digunakan dapat dihitung dari hasil titrasi asam-basa, dengan formula menurut (Sulaeman dkk., 2005).

Cara kerja penetapan kapasitas tukar kation gugus fungsional asam sitrat, sesuai dengan preparasi khelasi, yaitu ditambahkan padanya 80 ml air bebas ion dan batu didih dimasukkan ke dalam labu didih destilator. Penampung destilat disiapkan yaitu 10 ml asam borat 1% dalam erlemeyer yang dibubuhi tiga tetes indikator conway. Destilasikan dengan menambahkan 10 ml NaOH 40%. Destilasi diakhiri bila volume destilat sudah mencapai 75 ml. Destilat dititrasi dengan larutan standar H_2SO_4 0,05 N hingga warna larutan tepat berubah dari hijau ke merah jambu. Penetapan blanko dikerjakan sebagaimana prosedur di atas. *Indicator conway*: larutkan 0,100 g *metil red* dan 0,150 g *bromcresol green* dengan 200 ml etanol 96 % (Sulaeman dkk., 2005).

Formula penetapan kapasitas tukar kation [KTK ($cmol^+/kg$)]:

$$KTK = (V_c - V_b) \times N \times 100 \times f_k \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

V_c = ml titran untuk contoh

V_b = ml titran untuk blanko

N = normalitas H_2SO_4

f_k = faktor koreksi kadar air = $100/(100 - \% \text{ kadar air})$
(Sulaeman, dkk., 2005).

Perancangan Percobaan

Penelitian tahapan deprotonasi ini disusun dalam rancangan acak lengkap faktorial. Faktor perlakuan dalam penelitian ini terdiri dari faktor ratio asam sitrat terhadap air yang terdiri dari tiga taraf: 0,1:1; 0,2:1 dan 0,3:3 dengan faktor pH lingkungan khelasi yang terdiri dari tiga taraf 5; 7,5 dan 10. Berdasarkan analisis varian apabila diketahui adanya perlakuan yang berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan analisis DMRT dengan taraf signifikansi 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Akumulasi Plumbum (Pb) dan Cadmium (Cd) pada biji kedelai

Berdasarkan hasil analisis menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer – flame*) diketahui bahwa, akumulasi plumbum (Pb) dan cadmium (Cd) pada lahan masing-masing Pb = 8,66 ppm dan Cd = tidak terdeteksi. Hasil penelitian distribusi kedua logam berat secara anatomis pada jaringan biji kedelai, disajikan sebagai berikut (Tabel 1).

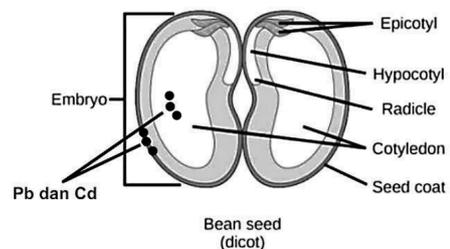
Tabel 1. Akumulasi Pb dan Cd pada lahan dan distribusinya secara anatomis pada biji kedelai

Logam berat	Akumulasi pada lahan (ppm)	Distribusi secara anatomis biji			
		Jaringan kulit		Kotiledon	
		(ppm)	(%)	(ppm)	(%)
Pb	8,66	0,3744	49,28	0,3853	50,72
Cd	nd	0,0225	49,49	0,023	50,51

Keterangan:

nd ---- tidak terdeteksi, batas deteksi (0,01 ppm)

Pada Gambar 1 berikut disajikan distribusi logam berat Pb dan Cd secara anatomis pada biji kedelai, gambar dasar struktur anatomi biji kedelai bersumber dari (Dario-Becker, 2013).



Gambar 1. Distribusi logam berat plumbum (Pb) dan cadmium (Cd) secara anatomis dalam biji kedelai

Hasil penelitian Seregin dan Kozhevnikova (2005) tentang distribusi logam berat pada biji *maize caryopses*, dinyatakan bahwa Pb pada biji terdapat pada sel kulit dan sel *scutellum*, tetapi tidak terdapat pada sel endosperm, sedangkan Cd terdapat pada kulit dan tidak terdapat pada sel endosperm.

Perbedaan distribusi logam berat khususnya Pb dan Cd pada biji kedelai dan *maize* sebagaimana tersebut di atas disebabkan karena secara anatomi kedua struktur biji tersebut berbeda. Kedelai merupakan tanaman dikotiledon yang struktur anatomis bijinya tidak terdapat *scutellum* dan *endosperm* sebagaimana pada biji *maize caryopses* yang secara sistematis tumbuhan termasuk monokotiledon. Menurut Anonim (2008), biji kedelai secara anatomis berkeping dua, terbungkus kulit biji dan tidak mengandung jaringan endosperm.

Deprotonasi Gugus Fungsional Chelating Agent Asam Sitrat

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 2 dapat dinyatakan bahwa, deprotonasi gugus fungsional asam sitrat tertinggi $9,43 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ dicapai pada kondisi khelasi yang menggunakan ratio asam sitrat terhadap air 0,3:1 pada pH 10 (A_3B_3). Kondisi khelasi tersebut berdasarkan uji DMRT 5 % menunjukkan tidak berbeda nyata dengan perlakuan ratio

asam sitrat terhadap air 0,2:1 pada pH 10 (A₂B₃), demikian pula dengan perlakuan ratio asam sitrat terhadap air 0,1:1 pada pH 10 (A₁B₃). Keadaan tersebut menunjukkan bahwa peningkatan volume *chelating agent* asam sitrat dari 1, menjadi 2 atau 3 g bukan faktor yang menentukan besarnya kapasitas tukar kation gugus fungsional karboksil yang bersifat pseudo penukaran ion. Keaktifan gugus fungsional karboksil –COOH dari asam sitrat dengan melepaskan ion H⁺ menjadi ion sitrat –COO⁻, ditentukan oleh faktor pH lingkungan khelasi. Menurut (Li dkk., 2010) menyatakan, gugus fungsional karboksil –COOH yang terikat pada makromolekuler (asam sitrat) akan terurai akibat adanya perubahan pH dan membentuk muatan negatif, yang menyebabkan gugus fungsional tersebut akan bersifat aktif. Atom hidrogen pada gugus karboksil –COOH dapat dilepaskan sebagai ion H⁺ (proton) atau mengalami deprotonasi. Gugus –COOH dapat mengalami deprotonasi pada pH yang relatif tinggi, sehingga mempunyai peluang membentuk kompleks dengan ion logam yang disebut khelasi.

Menurut Ismail dan Hanudin (2005), menyatakan derajat keasaman (pH) lingkungan khelasi menentukan jumlah proton yang terlepas (deprotonasi). Keaktifan (jumlah proton) gugus fungsional *chelating agent* ditentukan dengan mengetahui jumlah total kation yang dapat dipertukarkan (kapasitas tukar kation) pada volume pengkhelat dan pH lingkungan khelasi. Kekuatan pertukaran kation dipengaruhi oleh berbagai faktor, semakin besar muatan semakin kuat kapasitas pertukaran. Jumlah kation total yang dipertukarkan akan sebanding dengan total ion hidrogen yang dilepaskan resin (Shofyan, 2010). Berikut disajikan hasil penelitian deprotonasi gugus fungsional asam sitrat sebagai bahan pengkhelat (Tabel 2).

Tabel 2. Deprotonasi gugus fungsional asam sitrat pada berbagai pH lingkungan khelasi.

Perlakuan	Kapasitas tukar kation (cmol ⁺ kg ⁻¹)
C ₁ B ₁ (ratio asam sitrat terhadap air 0,1:1 pada pH 5)	3,20 ^a
C ₁ B ₂ (ratio asam sitrat terhadap air 0,1:1 pada pH 7,5)	5,22 ^{bc}
C ₁ B ₃ (ratio asam sitrat terhadap air 0,1:1 pada pH 10)	8,42 ^e
C ₂ B ₁ (ratio asam sitrat terhadap air 0,2:1 pada pH 5)	3,54 ^a
C ₂ B ₂ (ratio asam sitrat terhadap air 0,2:1 pada pH 7,5)	6,06 ^{cd}
C ₂ B ₃ (ratio asam sitrat terhadap air 0,2:1 pada pH 10)	8,75 ^e
C ₃ B ₁ (ratio asam sitrat terhadap air 0,3:1 pada pH 5)	4,38 ^{ab}
C ₃ B ₂ (ratio asam sitrat terhadap air 0,3:1 pada pH 7,5)	7,07 ^d
C ₃ B ₃ (ratio asam sitrat terhadap air 0,3:1 pada pH 10)	9,43 ^e

Keterangan:

- Perlakuan yang diikuti dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Lebih lanjut dinyatakan ion H⁺ dapat dihasilkan dari disosiasi asam-asam organik sebagai spesi yang mendonorkan proton. Asam sitrat mempunyai tiga gugus karboksilat –COOH yang dapat melepas proton dalam larutan. Ion H⁺ pertama akan dilepas pada pH 3, H⁺ kedua dilepas pada pH 7 dan H⁺ ketiga dilepas pada pH 10 (Purwanto, 2012). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pada pH yang relatif tinggi akan meningkatkan konsentrasi –COO⁻ yang dapat berfungsi sebagai ligan (Herjuna, 2011).

Ion H⁺ dapat dihasilkan dari disosiasi asam-asam organik sebagai spesi yang mendonorkan proton H⁺. Asam sitrat mempunyai tiga gugus karboksilat –COOH yang dapat melepas proton (H⁺) dalam larutan. Ion H⁺ pertama akan dilepas pada pH 3, H⁺ kedua dilepas pada pH 7 dan H⁺ ketiga dilepas pada pH 10 (Purwanto, 2012). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pada pH yang relatif tinggi akan meningkatkan konsentrasi –COO⁻ yang dapat berfungsi sebagai ligan (Herjuna, 2011). Pengaruh pH terhadap pelepasan proton dapat dikaitkan dengan nilai pKa-nya. Nilai pKa asam sitrat masing-masing 3,13; 4,76 dan 6,4. Apabila pH lingkungan di atas nilai pKa-nya, maka proton dalam asam itu terlepas semua, sebaliknya apabila pH di bawah pKa-nya maka senyawa organik dalam bentuk asam dan tidak bermuatan. Gugus fungsional asam anorganik dapat mengalami disosiasi yang melepaskan proton (H⁺) (Ismail dan Hanudin, 2005).

Mekanisme Khelasi Pb dan Cd dalam Komplek Phytochelatin oleh Asam Sitrat melalui Pseudo-Penukar Ion, Membentuk Ligan

Berdasarkan pada kajian pustaka tentang mekanisme khelasi Pb dan Cd oleh *chelating agent* asam sitrat pada biji kedelai, Penulis dapat merangkum sebagaimana penjelasan berikut ini. Mekanisme khelasi logam Pb dan Cd dalam kompleks phytochelatin terkait dengan bentuk formasi koordinasi *mononuclear*. Menurut Mendoza-Co'zatl dkk. (2011) hasil analisis dalam tanaman *hyperaccumulator Cd*, menunjukkan bahwa 60% dari Cd dalam biji dikomplekkan dengan senyawa yang mengandung thiol [X–S–Cd], yaitu senyawa yang mengandung gugus fungsi yang terdiri dari atom sulfur dan atom hidrogen (–SH). Menurut Jalilehvand dkk. (2009) menyatakan bahwa, pH mempengaruhi formasi koordinasi *mononuclear cadmium(II)–cysteine*, lebih lanjut dikatakan pada pH 7,5 formasi koordinasi *mononuclear cadmium(II)–cysteine* [Cd(HCys)(Cys)] terkoordinasi oleh gugus –COO⁻ dari ligan sistein, sedangkan pada pH 11 formasi koordinasi *mononuclear cadmium(II)–cysteine* [Cd(S,N–Cys)₂]²⁻ (CdS₂N₂) terkoordinasi oleh ligan Cys-S.

Berdasarkan kajian dan telaah pustaka, penulis berpendapat interaksi antara logam dan ligan diakibatkan

oleh tarikan antara kation logam yang bermuatan positif dan elektron ligan yang bermuatan negatif. Dalam kasus kompleks logam dengan phytochelatin – Pb atau Cd dapat dijelaskan sebagai berikut. Logam ketika akan terjadi interaksi dengan ligan cys-S yang bermuatan negatif, maka Pb atau Cd mendonorkan elektron dari kulit terluarnya dan nonlogam sulfur sebagai asektor elektron. Menurut Sarosa (2010) menyatakan bahwa unsur-unsur logam melepaskan elektron, cara ini dilakukan oleh karena mempunyai energi ionisasi yang relative kecil. Atom unsur logam yang melepaskan elektron berubah menjadi positif (bersifat elektro positif). Keelektropositifan (sifat logam) adalah kemampuan relatif suatu atom untuk melepaskan elektron pada kulit terluarnya.

Selanjutnya penulis berpendapat dalam hal mengekstrak ion logam Pb atau Cd yang terdapat dalam kompleks phytochelatin, maka kompleks Pb atau Cd-PC harus mengalami proses reduksi. Di sisi lain, gugus karboksil dari asam sitrat terdisosiasi dalam larutan (karena pengaruh peningkatan pH) dan akan menjadi ion karboksil dan sebuah proton ($-COOH \rightarrow -COO^- + H^+$). Menurut Ismangil dan Hanudin (2005), menyatakan ion hidrogen H^+ ukurannya yang kecil $r = 0,3\text{\AA}$ dan potensial ionisasinya yang besar dapat masuk ke dalam kisi-kisi mineral (dalam hal penelitian ini masuk ke dalam kompleks Pb-phytochelatin atau Cd-phytochelatin) dan mampu menggantikan kedudukan kation penyeimbang yang ada di dalam kisi-kisi. Lebih lanjut Ismangil dan Hanudin (2005) menyatakan semakin kecil jari-jari atom, maka nilai keelektronegatifan semakin besar. Sifat keelektronegatifan sama dengan energi ionisasi dan afinitas elektron, (keelektronegatifan adalah kemampuan suatu atom untuk menarik elektron).

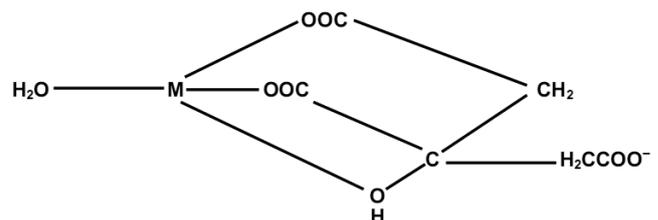
Menurut Ismangil dan Hanudin (2005), menyatakan hidrogen memiliki 1 proton dan 1 elektron. Menurut Phillips (2014), hidrogen adalah penarik atom lain yang memiliki satu proton dan satu elektron, cenderung untuk memberikan elektron, memberikan muatan $a+1$ sebagai ion. Menurut Burke (2013) menyatakan, transfer elektron logam ke nonlogam sebagaimana tersebut di atas, terjadi ketidak seimbangan listrik yang menyebabkan suatu elemen tidak bisa eksis dengan ketidak seimbangan listrik. Menurut Sutton dkk. (2003) menyatakan, dengan demikian logam yang ada dengan shell kosong yang mana shell tersebut akan diisi segera nantinya.

Penulis berpendapat, kosongnya shell terluar dari logam Pb atau Cd karena interaksi elektrostatis dengan ligan Cys-S, maka selanjutnya Pb atau Cd dalam kompleks phytochelatin mengalami proses reduksi oleh hidrogen H^+ hasil disosiasi asam sitrat yang memiliki dan kecenderungan untuk memberikan elektron, sehingga terbentuklah logam netral dan terlepasnya atom logam bebas Pb^{2+} dan Cd^{2+} . Pada proses khelasi, maka terjadilah logam bebas tersebut akan diikat

pseudo penukar ion yang bersifat aktif $-COO^-$, membentuk kompleks ligan *tridentate* (*polydentate*).

Menurut Ophart (2003) menyatakan bahwa, agent pereduksi (penambahan atom hidrogen) dapat memutuskan ikatan disulfida antar cysteine dalam rantai protein, sehingga membentuk gugus thiol $-SH$. Menurut Ratna (2010), untuk mengekstrak logam, senyawa logam harus mengalami proses reduksi (ion logam positif menerima elektron negatif untuk membentuk atom logam netral, atau oksida yang kehilangan oksigen untuk membentuk atom logam bebas). Menurut Purwanto (2012) menyatakan bahwa, termasuk ligan-ligan medan lemah seperti $S^{2-} < NCS^- < H_2O$, sedangkan ligan medan kuat seperti $CO > CN$. Berdasarkan deret spektrokimia yang merupakan daftar-daftar ligan disusun berdasarkan perbedaan energi antara dua kelompok orbital yang dihasilkan (disusun berdasarkan perbedaan energi dari yang kecil ke energi yang besar): $I^- < Br^- < S^{2-} < SCN^- < Cl^- < NO_3^- < F^- < OH^- < C_2O_4^{2-} < H_2O < NCS^- < CH_3CN < py < NH_3 < en < 2,2\text{-bipiridina} < phen < NO_2^- < PPh_3 < CN^- < CO$.

Menurut Amer (2012) menyatakan, *tridentate ligand* memiliki tiga atom donor, yaitu dua oksigen dari gugus karboksilat $-OOC-$ dan satu oksigen dari gugus hidroksil ($-OH$) yang memungkinkan mereka untuk mengikat ke pusat atom logam atau mengikat ion logam di tiga titik, juga disebut *polydentate ligand*.



Gambar 2. *Mononuclear tridentate complex* dalam khelasi asam sitrat dengan ion logam (M).

Sumber: Amer (2012)

Menurut Ullah (2007) menyatakan bahwa, asam sitrat merupakan salah satu molekul rendah dari asam-asam organik yang dengan Cd atau Pb bisa membentuk kompleks *polynuclear tridentate* dengan melibatkan dua gugus carboxyl dan gugus hidroksil.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa akumulasi Pb pada jaringan kulit biji kedelai rerata $0,37 \pm 0,03$ ppm, sedangkan Pb pada jaringan kotiledon rerata $0,39 \pm 0,07$ ppm. Akumulasi Cd pada jaringan kulit biji kedelai rerata $0,02 \pm 0,004$ ppm sedangkan Cd pada jaringan kotiledon rerata $0,02 \pm 0,004$ ppm.

Deprotonasi gugus fungsional asam sitrat tertinggi $9,43 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ dicapai pada khelasi yang menggunakan asam sitrat 3 g pada pH 10 (A_3B_3). Keadaan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan ratio asam sitrat terhadap air 0,2:1 dan 0,1:1 pada lingkungan khelasi pH 10, yang masing-masing dengan sebutan perlakuan (A_2B_3) dan (A_1B_3).

Gugus fungsional karboksil $-\text{COOH}$ asam sitrat sebagai *chelating agent* pada keadaan lingkungan khelasi pH 10, mengalami deprotonasi menghasilkan pseudo-penukar ion yang bersifat aktif $-\text{COO}^-$ dan ion H^+ sebagai donor proton untuk membentuk atom logam netral pada kompleks PC, sehingga terbentuklah atom logam bebas Pb^{2+} atau Cd^{2+} . Proses khelasi terjadi, yaitu ion logam bebas diikat pseudo-penukar ion $-\text{COO}^-$, membentuk kompleks ligan *tridentate* (*polydentate*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah memberikan bantuan Penelitian Hibah Disertasi Doktor tahun anggaran 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Amer, S. (2012). As many scientist and engineer have discovered in recent years, the treatment of citrate-chelated metals may not be as complicated as some researchers original believed. www.pollutionengineering.com. [28 Maret 2014].
- Anonim (2008). Mutu kedelai nasional lebih baik dari kedelai impor. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta Selatan. www.litbang.deptan.go.id. [23 Maret 2014].
- Ansari, A.R., Kazi, A.T.G., Jamali, A.M.K., Arain, A.M.B., Wagan, B.M.D., Jalbani, C.N., Afridi, A.H.I. dan Shah A.A.Q. (2009). Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. *Food Chemistry* **115**: 318-323.
- Ariyanto, D.P. (2006). *Ikatan Antara Asam Organik Tanah dengan Logam*. Karya Ilmiah Pasca Sarjana Ilmu Tanah. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Association of Analytical Chemist (2005). *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist*. 17th edition Washington, D.C.
- Balia, R.L., Harlia, E., Denny dan Suryanto (2007). Keamanan pangan hasil ternak ditinjau dari cemaran logam berat. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. blogs.unpad.ac.id/roostitabalia/wp-content/. [30 Januari 2010].
- Burke, R.A. (2013). *Hazardous Materials Chemistry for Emergency Responders*. 3th edition. CRC press Taylor and Francis Group, LLC. Books.Google. co.id. [3 Mei 2013].
- Charlena (2004). Pencemaran logam berat timbal (Pb) dan cadmium (Cd) pada sayur-sayuran. Falsafah Sain (Psl 702). Program Pascasarjana/S3/Institut Pertanian Bogor. <http://www.scribd.com/doc/>. [30 Januari 2010].
- Dario, J. dan Becker. (2013). Pollination and fertilization biology, mixed majors, biology licensed by rice university under a creative commons attribution license. <http://cnx.org/content/col11592/1.2/>. [3 Maret 2014].
- Drazic, G. dan Mihailovic, N. (2005). Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. *Plant Science* **168**: 511-517.
- Gonzales, A.G. dan Horrador, M.A. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *Trend in Analytical Chemistry* **26**: 227-238.
- Herjuna, S. (2011) Bahan humat sebagai amelioran - Abu terbang sebagai amelioran. repository.ipb.ac.id. [17 Maret 2012].
- Jalilehvand, F., Leung, B.O. dan Mah V. (2009). Cadmium (II) complex formation with cysteine and penicillamine. *Journal Inorganic Chemistry* **48**(13): 5758-5771.
- Lahuddin (2007). Aspek unsur mikro dalam kesuburan tanah. Pidato pengukuhan jabatan Guru Besar Tetap. Universitas Sumatera Utara Medan. www.usu.ac.id. [19 Maret 2012].
- Lavado, R.S., Porcelli, C.A. dan Alvarez, R. (2001). Nutrient and heavy metal concentration and distribution in corn, soybean and wheat as affected by different tillage systems in the argentine pampas. *Soil and Tillage Research* **62**: 55-60.
- Li, Q., Chai, L., Wang, Q., Yang, Z., Yan, H. dan Wang Y. (2010). Fast esterifikasi of spent grain for enhanced heavy metal ions adsorption. *Bioresource Technology* **101**: 3796-3799.
- Mendoza-Co'zatl, D.G., Jobe, T.O., Hauser, F. dan Schroeder, J.I. (2011). Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic. *Plant Biology* **14**: 554-562.

- Ophart, C.E. (2003). Denaturation of Proteins. Chembooks Elmhurst College. [3 Mei 2013].
- Phillips, M., (2014). Divine elements. CrossBook Bloomington, 380p. Books.google.co.id [31 Maret 2014].
- Purwanto, B.H., (2012). Interaksi antar bahan terlarut. <http://benito.staff.ugm.ac.id>. [17 Maret 2012].
- Puslitbang Tanah (2002). Pencemaran bahan agrokimia perlu diwaspadai. Pusat penelitian pengembangan tanah dan agroklimat, Bogor. www.pustaka.litbang.deptan.go.id. [23 Juni 2010].
- Sarosa, W.J. (2010). Super kimia. Kawah Media Jakarta Selatan. Books.google.co.id. [23 Maret 2014].
- Seregin, V. dan Kozhevnikova, A.D. (2005). Distribution of cadmium, lead, nickel, and strontium in imbibing maize caryopses. *Russian Journal of Plant Physiology* **52**(4): 565-569.
- Setiawan, B. (2008). Peran asam humus sebagai pendesorpsi ion logam/radionuklida. *Prosiding Seminar Nasional IV SDM Teknologi Nuklir Yogyakarta. jurnal.sttn-batan.ac.id/*. [22 Maret 2010].
- Shah, B.A., Shah, A.V., Bhandari, B.N. dan Bhatt, R.R. (2008). Synthesis, charecterization and chelation ion-exchange studies of a resin copolymer derived from 8-hydroxyquinoline-formaldehyde-catechol. *Journal Iranian Chemical Society* **5**(2): 252-261.
- Sridhar, S., Kulanthaipandi, P., Arasu, P.T., Thanikachalam, V. dan Manikandan, G. (2009). Protonating and chelating efficiencies of some biologically important thiocarbonohydrazides in 60% (v/v) ethanol-water system by potentiometric and spectrophotometric methods. *World Journal of Chemistry* **4**(2): 133-140.
- Sulaeman, Suparto dan Eviati (2005). Petunjuk teknis analisis kimia tanah, tanaman, air, dan pupuk. Balai Penelitian Tanah Badan penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian. www.balittanah.litbang.deptan.go.id. [16 Maret 2011].
- Sutton, R., Rockett, B. dan Swindells, P. (2003). Chemistry for the life science. Published Tylor and Francis Inc. New York. Books. google.co.id. [9 Mei 2014].
- Ullah, S. (2007). Chemically enhanced phytoextraction of lead from contaminated soil. Institute of Soil and Environment Sciences University of Agriculture, Faisalabad Pakistan. www.researchgate.net. [18 Februari 2012].
- Yang, Z. dan Chu, C. (2011). Towards understanding plant response to heavy metal stress dalam Shanker, A., Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations. 428p. Publisher InTech www.intechopen.com. [11 September 2013].
- Yong, Z., Bo-Han, L., Qing-Ru, Z., Min, Z dan Ming, L. (2008). Surfactant linear alkylbenzene sulfonate effect on soil Cd fractions and Cd distribution in soybean plant in pot experiment. *Pedosphere* **18**(2): 242-247.
- Zander, N.E. (2009). Chelating polymers and environmental remediation. *Army Research Laboratory ARL-CR-0623*: 1-16.
- Zheljazkov, V.D., Jeliaskova, E., Kovachevab, N. dan Dzhurmanski, A. (2008). Metal uptake by medicinal plant species grown in soils contaminated by a smelter. *Environmental and Experimental Botany* **64**: 207-216.