

Potensi Ekstrak Daun Minyak Kayu Putih (*Melaleuca Leucadendra* Linn) dalam Penurunan Merkuri (HG) pada Ikan Gabus (*Channa Striata*) di Kawasan Pendulangan Intan

Potential of White Leaf Exstact (*Melaleuca Leucadedra* Linn) in Reducing Mercury (HG) in Snakehead Fish (*Chana Striata*) in the Diamond Mining Area

Maria Gabriella^{1*}

Rahmadani²

Kunti Nastiti³

Program Studi Sarjana Farmasi
Fakultas Kesehatan Universitas
Sari Mulia, Banjarmasin,
Kalimantan Selatan, Indonesia

*email:

Gabbygabriella97@gmail.com

Abstrak

Ikan gabus yang merupakan jenis ikan predator air tawar dalam rantai makanan dalam suatu perairan dalam mengakumulasi logam dari lingkungannya dan kemudian mentransfernya ke dalam manusia melalui konsumsi yang dapat menyebabkan penyakit akut dan kronis. Merkuri adalah logam berat dengan tingkat toksisitas cukup tinggi. Daun kayu putih memiliki banyak kandungan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang membantu sistem pertahanan tubuh suatu organisme dalam menangkal adanya bahan pencemar seperti logam berat. Tujuan: Mengetahui potensi ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra* linn.) dalam penurunan hg pada ikan gabus di kawasan pendulangan intan. Pada pengujian ini menggunakan konsentrasi 100% digunakan untuk pengukuran penurunan kadar merkuri pada ikan yang tercemar merkuri menggunakan spektrofotometri serapan atom dengan lama perendaman 0, 30 dan 60 menit selanjutnya dilakukan analisis data dengan one way anova serta dilakukan skrinning fitokimia untuk mengidentifikasi keberadaan metabolit sekunder. Pada konsentrasi 100% dengan waktu perendaman 0,30 dan 60 menit menunjukkan hasil penurunan kadar merkuri sebesar 0,038 mg/kg, 0,028 mg/kg dan 0,017 mg/kg. Hasil analisis data nilai signifikan >0,05 yang berarti ekstrak daun kayu putih memiliki potensi menurunkan merkuri pada ikan gabus. Selain itu hasil skrinning fitokimia pada ekstrak daun minyak kayu putih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid. Ekstrak daun kayu putih dengan variasi konsentrasi 100% dengan lama waktu perendaman 60 menit memiliki pengaruh pada penurunan merkuri pada ikan gabus. Selain itu, hasil skrinning fitokimia pada ekstrak daun kayu putih terdapat kandungan Alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid.

Kata Kunci:

Daun kayu putih
Ikan gabus
Logam merkuri (hg)
Spektrofotometri serapan atom

Keywords:

White wood leaf
Snakehead fish
Metal mercury (hg)
Atomic
Absorption spectrophotometry

Abstract

Snakehead fish which is a type of freshwater predatory fish in the food chain in deep waters accumulates metals from the environment and then transfers them to humans through consumption which can cause acute and chronic diseases. Mercury is one of the chemicals that is classified as a heavy metal with a fairly high level of toxicity. white wood leaves contain a lot of antioxidants. Antioxidants are compounds that can help an organism's body's defense system in preventing the presence of contaminants such as heavy metals. In this test using a concentration of 100% was used to measure the decrease in mercury levels in fish contaminated with mercury (Hg) using atomic absorption spectrophotometry with intervals of immersion time of 0, 30 and 60 minutes, then data analysis was carried out with one way ANOVA and the Post hoc test and Phytochemical screening was carried out to identify the presence of secondary metabolites. At a concentration of 100% with an immersion time interval of 0.30 and 60 minutes showed a decrease in mercury (Hg) levels of 0.038 mg/kg, 0.028 mg/kg and 0.017 mg/kg. In addition, the results of phytochemical screening on melaleuca leaf extract contained alkaloids, flavonoids, tannins and steroids. Melaleuca leaf extract with various concentrations of 100% with a soaking time of 60 minutes has an effect on reducing mercury in snakehead fish. In addition, the results of phytochemical screening on eucalyptus leaf extract contained alkaloids, flavonoids, tannins and steroids.



PENDAHULUAN

Kalimantan Selatan merupakan salah satu provinsi di Indonesia dengan lingkungan yang memiliki potensi pertambangan cukup menjanjikan. Bahan galian tambang yang dapat ditemukan di Kalimantan Selatan terdiri atas bahan galian energi, bahan galian logam, dan bahan galian industri (Nikmah & Yamani, 2022). Studi terkait dampak ekonomi dan sosial pertambangan menunjukkan bahwa banyak manfaat di sektor sosial dan ekonomi bagi masyarakat setempat khususnya pada pertumbuhan kegiatan usaha mikro disekitar wilayah kerja tambang (Nikmah & Yamani, 2022). Dengan potensi sumber daya alam berupa pertambangan memang memberikan dampak positif dari segi ekonomi. Akan tetapi, selain memberikan dampak positif terdapat juga dampak negatif salah satunya pemanfaatan air di daerah pendulangan intan oleh masyarakat setempat yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari serta kontaminasi logam berat di tanah dan perairan yang menjadi tempat hidupnya ikan disekitarnya adalah masalah umum yang dihadapi di banyak lokasi limbah berbahaya. Polutan logam yang paling sering diamati seperti kadmium, tembaga, seng, merkuri dan juga sianida (Hidayati et al., 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Maulidah, et al (2015) yang dilakukan pada areal pertambangan rakyat intan dan emas di kecamatan Cempaka Kota Banjarbaru menunjukkan adanya keberadaan merkuri (Hg) dilihat dari hasil rerata pengukuran Hg pada stasiun I, II, dan III tidak sesuai untuk persyaratan baku mutu kualitas air untuk pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran pada PP No.82 tahun 2001. Sementara itu pada penelitian Indrajaya & Virgiyanti (2019) Rentang konsentrasi Hg sekitar 10% sampai 20% biasanya belum menimbulkan gejala toksisitas, tetapi pada konsentrasi 50% sampai 100% akan mulai menunjukkan gejala keracunan (Saurmaria & Utomo, 2017). Pencemaran merkuri dari penambangan emas terjadi Ketika proses pengolahan berlangsung yang mengakibatkan sisa tailing

tercecer pada saat pemindahan dan saat kondisi bak penampungan penuh sehingga tailing meluap dan mengalir ke sungai terutama jika terjadi hujan, maka terjadi kontaminasi merkuri dilingkungan sekitarnya. Merkuri (Hg) adalah salah satu unsur kimia yang tergolong logam berat dengan tingkat toksisitas cukup tinggi, hal itu dikarenakan organisme yang ada di lingkungan tidak dapat menghancurkan merkuri (Hg) sehingga menyebabkan terakumulasi atau mengendapnya merkuri (Hg) di lingkungan.

Ikan merupakan salah satu biota perairan yang sering dipakai sebagai bioindikator logam berat di perairan, karena ikan termasuk ke dalam trofik level tertinggi dan sumber protein manusia. Apabila ikan yang terakumulasi logam berat dikonsumsi oleh manusia, maka logam berat tersebut dapat terakumulasi dalam tubuh manusia. Edward (2010) menyatakan bahwa dalam penelitiannya jumlah akumulasi logam berat dari yang terbesar hingga terkecil yaitu insang, ginjal, hati dan daging. Secara tidak langsung logam berat terlarut dalam air akan masuk ke dalam tubuh biota melalui insang dibawa darah ke daging, maka dari itu penelitian ini menggunakan bagian daging ikan karena kontaminasi merkuri dapat terbioakumulasi pada manusia karena manusia merupakan bagian dari proses rantai makanan.

Masyarakat Kalimantan Selatan sering mengonsumsi ikan khususnya ikan gabus (*Channa striata*) yang merupakan jenis ikan predator air tawar dalam rantai makanan dalam suatu perairan dalam mengakumulasi logam dari lingkungannya dan kemudian mentransfernya ke dalam manusia melalui konsumsi yang dapat menyebabkan penyakit akut dan kronis, ikan yang terdapat di sungai juga dikonsumsi oleh masyarakat. Jenis ikan yang paling banyak yaitu ikan gabus. Hasil sungai tersebut tidak hanya diambil untuk keperluan konsumsi tetapi juga untuk keperluan mata pencaharian masyarakat di wilayah pendulangan intan Cempaka Banjarbaru sehingga pencemaran merkuri harus dihindari. Penanganan ikan yang tercemar logam berat

dapat dilakukan dengan cara merendam dalam ekstrak daun kayu putih.

Pada lokasi pendulangan intan ini terdapat banyak sekali tanaman yang tumbuh salah satunya yaitu tanaman kayu putih. Tanaman kayu putih selain memiliki kemampuan beradaptasi yang tinggi diberbagai kondisi lahan juga termasuk jenis tanaman cepat tumbuh (Fast growing spesies) sehingga diharapkan dapat mencover lahan dan memperkaya unsur hara tanah dengan cepat (Rahmawati et al., 2020). Hal ini sangat dibutuhkan untuk merestorasi lahan. Beberapa penelitian menunjukkan kemanjuran dari tumbuhan kayu putih genus *Melaleuca* seperti antibakteri, antiviral, antitemite dan antijamur (Pujiarti et al., 2011). *Melaleuca* dapat menjadi sumber yang sangat baik untuk antioksidan alami dan agen antibakteri untuk aplikasi media dan nutraceutical, salah satu standar penelitian fitokimia saat ini adalah evaluasi Total Phenolic Content (TPC) sebagai ukuran untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak. Semakin tinggi kandungan TPC suatu ekstrak, semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Aktifitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh, hasil nilai IC_{50} dengan ekstrak *Melaleuca Leucadendra* sebesar 6,074 $\mu\text{g/mL}$ hal ini dikarenakan jenis dan kandungan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti fenolik (Melannisa et al., 2011). Berarti nilai IC_{50} berada di bawah 50 ppm maka aktivitas antioksidan kategori sangat kuat. Pencemaran Hg dapat dinetralkan dengan pemberian antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat membantu sistem pertahanan tubuh suatu organisme dalam menangkal adanya bahan pencemar seperti logam berat (Robi et al., 2021).

Untuk menganalisis adanya kandungan logam berat pada suatu senyawa kita dapat menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif. Penelitian kuantitatif menggunakan instrumen Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) atau Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS). Alasan dari penggunaan

instrument SSA adalah karena instrument SSA menganalisis konsentrasi logam berat dalam sampel secara akurat, konsentrasi yang terbaca pada alat SSA berdasarkan banyaknya sinar yang diserap yang berbanding lurus dengan kadar zat serta analisis sampel pada kadar rendah. Maka dari itu untuk pengujian logam berat paling tepat menggunakan instrumen SSA.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin melakukan penelitian untuk melihat potensi ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra linn.*) dalam penurunan Hg (merkuri) pada ikan gabus (*Channa striata*) di Kawasan pendulangan intan.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah alat spektrofotometri serapan atom, beker glass, tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, gelas ukur, batang pengaduk, kertas saring, corong kaca, Erlenmeyer, tisu dan serbet.

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu sampel ikan gabus, ekstrak daun kayu putih, larutan HNO_3 , H_2O_2 , dan aquadest.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Pada penelitian ini digunakan ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra linn.*) yang diperoleh dari pendulangan batu intan Kecamatan Cempaka Kota Banjarbaru Kalimantan Selatan. Daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra linn.*) diekstraksi menggunakan metode maserasi. Untuk memperoleh konsentrasi 100% b/v yaitu dengan 100 ml ekstrak daun kayu putih ditambahkan 100 ml aquadest digunakan ekstrak cair daun kayu putih dengan volume 100 ml penambahan 100 ml aquadest.

Preparasi Sampel

Sampel daging lkan gabus ditimbang sebanyak 5 gram, dimasukkan kedalam gelas beker di lakukan perendaman dengan Ekstrak cair daun kayu putih konsentrasi 100% b/v. lkan kemudian direndam selama 0 menit, 30 menit dan 60 menit untuk menurunkan kadar Hg.

Dekstruksi Basah

Sampel yang telah dilakukan proses perendaman dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2 gram, ditambahkan HNO₃ sebanyak 5-10 ml, di tambahkan 2 ml H₂O₂, kemudian dilakukan destruksi basah di atas penangas air sampai larut, Selanjutnya sampel cair disaring menggunakan kertas saring dan tambahkan aquadest sampai batas 50 ml, diberi label untuk kelompok kontrol (tanpa pemberian ekstrak cair daun kayu putih) dan kelompok perkelompokan perlakuan (dengan pemberian ekstrak cair daun kayu putih).

Uji Alkaloid

Pengujian dilakukan dengan mengambil masing-masing 2 mL sampel daun kayu putih yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah dengan 5 tetes reagen Dragendroff. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya utuk pengujian Alkaoid dengan menggunakan reagen mayer dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun kayu putih yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing- masing ekstrak ditambah 3 tetes asam klorida pekat dan 5 tetes reagen Mayer. Jika masing- masing larutan terbentuk endapan putih maka sampel positif mengandung alkaloid (Mustikasari & Ariyani, 2010).

Uji Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun kayu putih yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing- masing dutambahkan dengan 0,1gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika maisng-masing larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid (Mustikasari & Ariyani, 2010).

Tabel I. Formulasi sediaan tablet lepas lambat ekstrak seledri

Bahan	Fungsi Bahan	Formula (mg)			
		F1	F2	F3	F4
Ekstrak seledri	Zat aktif	150	150	150	150
Xanthan gum	Polimer	25	38,5	45,25	52
Magnesium stearat	Lubrikan	30	16,5	9,75	3
Laktosa	Pengisi	17	17	17	17
Avicel PH 102	Pengikat	372	372	372	372
Aerosil	Glidan	6	6	6	6
Jumlah		600	600	600	600

Uji Steroid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun kayu putih yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna hijau maka positif mengandung steroid (Septyaningsih, 2013).

Uji Steroid

Pengujian dilakukan dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun kayu putih yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Jika masing-masing larutan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin (Marlinda et al., 2012).

Analisis Kadar Logam Merkuri

Pengukuran sifat alir secara langsung dilakukan Analisis logam Hg dengan menggunakan SSA yaitu dengan menyiapkan larutan blanko dan contoh ke dalam nyala asetilen, diaspirasikan larutan blanko dengan penunjukkan meter harus nol dengan menekan tombol zero set. Secara berturut turut diaspirasikan konsentrasi larutan baku menurut kenaikan konsentrasi, selanjutnya nilai absorban dari setiap larutan baku dicatat setelah itu larutan sampel diaspirasikan kedalam nyala kemudian serapannya dicatat. Persamaan regresi linear dari serapan larutan blanko dengan konsentrasinya dibuat kemudian serapan hasil pengukuran larutan contoh diplotkan ke dalam kurva larutan baku sehingga dapat diketahui konsentrasi logam yang dianalisis dengan rumus $Y = a + bx$.

Sampel uji dari hasil destruksi basah diukur serapannya menggunakan SSA. Sampel uji kemudian dianalisis untuk mengetahui konsentrasi kadar logam merkuri pada alat SSA, dimana instrument dan komputer dinyalakan, kemudian dicek kesiapan alat (lampu katoda, gas, tekanan detektor dan pemanas) dan buang gas. Langkah berikutnya pompa kompresor dinyalakan, lalu larutan uji diaspirasikan. Apabila ada serapan yang terbaca pada panjang gelombang maksimal 200-300 nm, maka cuplikan tersebut positif mengandung merkuri (Ginting, 2012).

Penurunan kadar logam merkuri di liat dari kelompok uji yang diberikan paparan ekstrak daun kayu putih dengan berbagai variasi lama waktu (0,30, dan 60 menit) sebagai kelompok uji, dengan dibandingkan kelompok control dengan identifikasi kandungan Hg tanpa adanya paparan ekstrak, maka untuk penurunan menggunakan rumus:

$$\% = \frac{C_0 \times C_1}{C_0} \times 100 \%$$

Keterangan:

C_0 = Konsentrasi awal

C_1 = Konsentrasi akhir

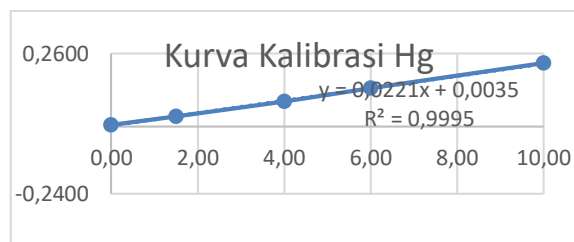
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan uji kuantitatif, didapatkan data hasil kadar logam merkuri pada sampel pengukuran menggunakan alat spektrofotometri serapan atom dengan Panjang gelombang 253,7 nm. Berikut adalah tabel hasil pengukuran:

Tabel II. Larutan Standar Merkuri

Konsentrasi Merkuri	Absorbansi
0,0000	0,0052
1,5000	0,0365
4,0000	0,0883
6,0000	0,1368
10,0000	0,2248

Hasil dari pengukuran larutan standar timbal dnegan berbagai macam konsentrasi waktu akan menghasilkan absorbansi yaitu a : 0,0035 b: 0,0221 r: 0,9995 , selanjutnya dan hasil dari absorbansi akan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi, seperti gambar dibawah ini :



Gambar I. Kurva Hubungan Kalibrasi Timbal Merkuri

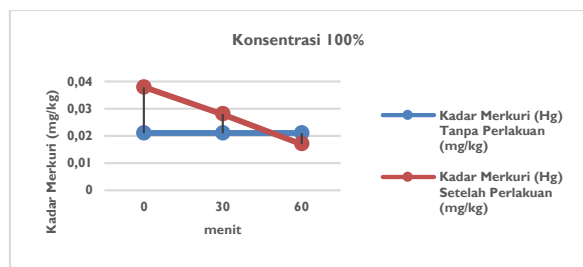
Koefesien korelasi r yang didapatkan diatas sebesar 0,9995 hubungan tersebut membentuk garis lurus ditunjukkan dengan nilai mendekati atau sama dengan satu.

Persentase Penurunan Kadar Logam Merkuri Sampel

Tabel III. Hasil Penurunan Kadar Logam Merkuri Sampel

Konsentrasi (%) / Waktu (Menit)	Kadar Merkuri (Hg) Tanpa Perlakuan (mg/kg)	Kadar Merkuri (Hg) Setelah Perlakuan (mg/kg)	% Penurunan Kadar Merkuri (Hg)
100% 0	0,021	0,038	-80,95%
30	0,021	0,028	-33,33%
60	0,021	0,017	19,04%

Dari tabel yang diatas dapat dilihat kadar logam dan pengaruh penurunan kadar merkuri yang dimana kadarnya bervariasi, dilakukan dengan pengukuran menggunakan SSA dengan Panjang gelombang 253,7 nm.



Gambar II. Grafik penurunan kadar logam merkuri tiap waktu

Data Pengujian Statistika

Uji Normalitas

Uji normalitas adalah pengujian data untuk melihat apakah nilai residual terdistribusi normal atau tidak (Ghozali, 2016). Data yang terdistribusi normal akan memperkecil kemungkinan terjadinya bias. Pada penelitian ini, untuk mengetahui kenormalan distribusi data menggunakan *Shapiro Wilk Homogeneity Test*, karena sampel yang digunakan hanya kurang 30 sampel. Pada penelitian ini uji normalitas didapatkan nilai signifikan, sebagai berikut :

Tabel IV. Hasil Uji Normalitas Waktu Lama Perendaman terhadap Perse Penurunan Kadar

	Test of Normality		
	Waktu (Konsentrasi)	Shapiro -Wilk Statistic	Df Sig.
Persen Penurunan Hg	0 menit	.989	3 .797
	30 menit	1.00	3 1.000
	60 menit	.871	3 .298

Berdasarkan hasil Tabel III menyatakan bahwa pada normalitas kadar Hg diperoleh nilai signifikan (Sig) >0,05 yang artinya data menyebar normal.

Uji Homogenitas

Uji homogenitas digunakan sebagai bahan acuan untuk menentukan keputusan uji statistik. Menurut Widiyanto (2010) dasar atau pedoman pengambilan keputusan uji homogenitas adalah jika nilai signifikan atau Sig <0,05, maka dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi adalah tidak sama (tidak homogen) dan jika nilai Sig > 0,05, maka dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama (homogen), hasil uji homogenitas pada penelitian kali ini didapat signifikan 0,117, sebagai berikut :

Tabel V. Hasil Uji Homogenitas Waktu Lama Perendaman terhadap Perse Penurunan Kadar

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persen Penurunan Hg	Based on Mean	3.127	2	6	.117
	Based on Median	1.909	2	6	.228
	Based on Median and with adjusted df	1.909	2	2.608	.309

Based on trimmed mean	3.046	2	6	.122
-----------------------	-------	---	---	------

Berdasarkan hasil Tabel III menyakaan bahwa pada homogenitas kadar Hg diperoleh nilai signifikan (Sig) >0,05 yang artinya data homogenl.

Uji One Way Anova

Uji Anova digunakan untuk mengetahui pengaruh utama (main effect) dan pengaruh interaksi (*interaction effect*) dari variable indepeden kategorikan terhadap variable dependen metrik (Ghozali, 2016).

Tabel VI. Hasil Uji ANOVA One Way Waktu Lama Perendaman terhadap Perse Penurunan Kadar

ANOVA					
	Sum of Square	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1546.524	2	773.262	.502	.628
Within Groups	9234.623	6	1539.104		
Total	10781.147	8			

Berdasarkan hasil Tabel V menyatakan bahwa pada uji ANOVA nilai signifikan (Sig) >0,05 yang artinya H₀ diterima.

Skrinning Fitokimia

Hasil skrinning fitokimia ekstrak daun kayu putih dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel VII. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Kayu Putih

Senyawa	Metode	Hasil berdasarkan literatur	Hasil Pengamatan	Ket
Alkaloid (Pereaksi Dragendroff)	2ml sampel + 5 tetes dragen droff (Mustikasari & Ariyani, 2010)	Hasil positif terbentuk endapan jingga (Mustikasari & Ariyani, 2010)	Tidak terbentuk endapan jingga	-

Alkaloid (Pereaksi Mayer)	2ml sampel + 3 tetes HCl pekat + 5 tetes reagen mayer	Hasil positif terbentuk endapan putih (Mustikasari & Ariyani, 2010)	Terbentuk endapan putih	+
Flavonoid	2 ml sampel dipanaskan 5 menit + 0,1 gram logam mg + 5 tetes HCl Pekat	Hasil positif terbentuk larutan berwarna kuning jingga sampai merah (Mustikasari & Ariyani, 2010)	Jingga kemerah-merahan	+
Tanin	2ml sampel dipanaskan 5 menit + beberapa tetes FeCl3 1%	Hasil positif terbentuk larutan berwarna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Marlinda et al., 2012)	Biru kehitaman	+
Steroid	2ml sampel + 3 tetes HCl pekat + 1 tetes H2SO4 pekat	Hasil positif terbentuk warna hijau (Septyaningsih, 2013)	Terbentuk warna hijau	+

Berdasarkan hasil skrinning fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra linn.*) memiliki senyawa metabolit sekunder berupa Alkaloid, Flavonoid, Tanin dan steroid.

Penelitian ini dilaksanakan dengan menganalisis penurunan kadar logam berat merkuri pada ikan. Merkuri (Hg) adalah logam berat yang sangat berbahaya bagi Kesehatan manusia dapat merusak organ tubuh (Riani, 2016) dan dapat mengakibatkan cacat bawaan pada embrio yang dilahirkan (Riani et al., 2014).

Uji kuantitatif memiliki tujuan untuk melihat data yang berkaitan dengan angka, baik berupa hasil pengukuran atau nilai suatu data yang diubah dari data kualitatif (Notoatmodjo, 2012). Pada penelitian ini uji kuantitatif dilakukan untuk mengetahui berapa kadar logam berat merkuri (Hg) yang dimulai dengan membaca larutan standar kerja, spiked pada alat spektrofotometer serapan atom, graphite furnace pada Panjang gelombang 253,7 nm untuk Hg.

Berdasarkan hasil pengukuran nilai absorbansi konsentrasi 100% dengan lama waktu perendaman 0 menit, 30 menit, dan 60 menit didapatkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9997 yang artinya nilai koefisien korelasi ini sudah memenuhi syarat ketentuan yang ditetapkan oleh SNI bahwa nilai koefisien korelasi harus $\geq 0,995$ (Lusiana *et al.*, 2013).

Hasil nilai absorbansi tersebut selanjutnya dibuat kurva hubungan antara nilai konsentrasi (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y). Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus $y = bx + a$ didapatkan hasil konsentrasi kurva baku membentuk persamaan garis lurus pada grafik. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi suatu zat, maka semakin besar absorbansi radiasi atom bebasnya (Romsiah *et al.*, 2017). Tahapan berikutnya yaitu pengukuran nilai absorbansi pada sampel menggunakan spektrofotometri serapan atom.

Pada studi pendahuluan terhadap ikan gabus dilokasi ± 450 meter dari tempat pendulangan intan cempaka yang diperoleh secara acak hasil menunjukkan adanya keberadaan logam merkuri pada ikan gabus sebesar 0,135 mg/kg yang artinya nilai ini masih dibawah baku mutu yang telah ditetapkan oleh Peraturan Kepala BPOM Nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009 tentang penetapan batas maksimum cemaran mikroba dan kimia pada makanan bahwa ikan olahan memiliki batas maksimum kandungan merkuri sebesar 0,5 mg/kg.

Meskipun ikan gabus tersebut masih aman untuk dikonsumsi, perlu diwaspadai bahwa merkuri yang sudah terdapat di dalam tubuh ikan tersebut dapat mengalami akumulasi pada tubuh manusia yang mengkonsumsi ikan tersebut. Ikan gabus merupakan jenis ikan yang bergerak cepat yang hidup diperairan dangkal. ikan gabus (*Channa striata*) yang merupakan jenis ikan predator air tawar dalam rantai makanan dalam suatu perairan dalam mengakumulasi logam dari lingkungannya dan kemudian mentransfernya ke dalam

manusia melalui konsumsi yang dapat menyebabkan penyakit akut dan kronis (Aida, 2018).

Penelitian ini dilakukan dengan metode perendaman daging ikan gabus dengan rendaman ekstrak cair daun kayu putih. Konsentrasi ekstrak cair daun kayu putih yang digunakan adalah 100% dengan lama perendaman 0, 30 dan 60 menit. Adapun hasil kadar merkuri pada ikan gabus tanpa perlakuan sebesar 0,021 mg/kg dan setelah perendaman ekstrak cair daun kayu putih pada konsentrasi 100% dengan lama perendaman 0,30, dan 60 menit menunjukkan penurunan kadar sebesar 0,038 mg/kg, 0,0028 mg/kg dan 0,017 mg/kg dengan persen penurunan kadar masing-masingnya lama waktu perendaman sebesar -80,95%, -33,33% dan 19,04% yang berarti pada lama waktu perendaman 60 menit ekstrak daun kayu putih memiliki pengaruh penurunan kadar logam merkuri. Pada penelitian Nia *et al* (2017) Kadar Hg pada ikan belanak sesudah perlakuan perendaman dalam larutan filtrat tomat lebih rendah dibandingkan dengan sebelum perlakuan perendaman. Besarnya penurunan kadar Hg 0,012 mg/kg dengan persentase 86 %. Pada penelitian Ulfah *et al.* (2014), menunjukkan adanya penurunan Pb pada ikan keting dengan perendaman filtrat kulit nanas selama 60 menit terjadi penurunan yang lebih tinggi daripada perendaman selama 30 menit. Menurut Ulfah *et al.* (2014), semakin lama waktu perendaman maka semakin besar penurunan kadar logam berat dalam tubuh ikan karena semakin lamanya waktu yang diberikan untuk bereaksi dengan ion logam sehingga semakin banyaknya ikatan kompleks logam protein lepas. Pada waktu lama perendaman 0 menit dan 30 menit terdapat peningkatan kadar logam merkuri hal ini disebabkan karena pada hasil uji pendahuluan pada ekstrak sudah mempunyai kandungan logam merkuri sebesar 0,0002 mg/kg dan pada saat proses analisis yang dipengaruhi oleh suhu dan pH. Hal ini dikarenakan apabila suhu pada saat proses analisis panas maka instestitas (sinar/radiasi) menjadi meningkat, sedangkan jika pH pada saat proses analisis

rendah atau asam, maka dapat menyebabkan tingginya kelarutan dari logam merkuri.

Pada uji validitas dan reliabilitas untuk menunjukkan bahwa alat ukur tersebut benar-benar dapat mengukur apa yang ingin diukur memperoleh hasil pada uji akurasi memenuhi syarat akurasi dengan rentang rata-rata persen perolehan kembali adalah 80-120%, uji presisi untuk melihat kedekatan antara serangkaian yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel memenuhi syarat nilai CV uji presisi untuk senyawa dengan kadar <2% yang menunjukkan bahwa parameter presisi memberikan keterulangan yang dapat diterima dengan baik. Sementara itu pada uji linearitas hasilnya terpenuhi dengan nilai korelasi (r) mendekati 1 dan untuk batas deteksi (LOD) serta batas kuantifikasi (LOQ) sesuai menunjukkan hasil sebesar 0,35 dan 1,06 nilai ini adalah jumlah analit terkecil dalam sampel yang masih dapat terdeteksi oleh alat namun tidak perlu terkuantifikasi. Pada uji ANOVA nilai signifikan atau probabilitas >0,05 maka H_0 diterima (Walpole, 1995). Kemudian hasil uji ANOVA pada waktu lama perendaman terhadap persen kadar penurunan merkuri nilai signifikan sebesar 0,073. Ion logam yang terdapat dalam tubuh organisme hampir semuanya berikatan dengan protein. Interaksi kompleks antara ion logam dengan protein secara metaloenzim (protein berikatan secara kuat dengan ion logam membentuk ikatan yang stabil) dan metal protein (protein yang berikatan dengan logam di dalam tubuh dan ion logamnya mudah saling bertukar dengan protein yang lain (Ulfah et al., 2014). Menurut Mus (2004) bahwa faktor yang mempengaruhi penetrasi suatu larutan ke dalam daging yaitu bentuk daging dan ketebalan daging tersebut. Menurut Faisal (2015), penggunaan bahan yang berbasis asam tinggi tidak disarankan karena daging dapat mengerut dan menjadi keras. Lamanya waktu perendaman ekstrak daun kayu putih juga mempengaruhi penetrasi kedalam daging. Menurut Mus (2004), bahwa semakin lama proses perendaman maka semakin dalam pula penetrasi larutan kedalam daging.

Pada saat Skrining fitokimia adalah uji pendahuluan yang dilakukan bertujuan untuk melihat atau menganalisis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman dengan pereaksi warna. Berdasarkan hasil skrining fitokimia daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra linn.*) menunjukkan bahwa terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Zamzami et al., 2021) dimana penelitian ini menyebutkan bahwa pada ekstrak etanol kulit kayu dan daun galem sama-sama mengandung senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan terpenoid. Beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut mengandung gugus hidroksil, asam karboksil dan gugus amina yang dapat berperan dalam pengikatan ion logam (Satriyani, 2021). Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam (Yuhernita & Juniarti, 2011). Pada penelitian Charter et al (1978) dalam Hasfita (2012) tanin dan flavonoid dilaporkan memiliki gugus -OH yang dapat mengikat logam berat melalui pertukaran ion. Senyawa flavonoid diduga dapat berfungsi sebagai agen pengkhelet logam karena terdapat atom yang memiliki pasangan electron bebas yaitu atom oksigen, sehingga dapat berikatan dengan logam berat (Fitri et al., 2019).

KESIMPULAN

Ekstrak daun kayu putih dengan konsentrasi 100% dan lama waktu perendaman 60 menit memiliki pengaruh pada penurunan merkuri pada ikan gabus. Selain itu, hasil skrining fitokimia pada ekstrak daun kayu putih terdapat kandungan Alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sari Mulia dan pihak-pihak yang turut-serta membantu mulai dari mempersiapkan, melaksanakan, dan menyelesaikan penelitian ini.

REFERENSI

- Aida, S. N. 2018. Studi komparasi jenis makanan ikan gabus (*Channa striata*) di rawa banjiran Lubuk Lampam, Sumatera Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Ikan Ke 8*, 333–343.
- Bayani, H. 2022. Penyisihan Merkuri (Hg) Dari Tanah Tercemar Limbah Tailing Dengan Fitoremediasi Menggunakan Tanaman Akar Wangi (*Vetiveria Zizanioides* L). *Tugas Akhir*.
- Bijaksana, U. 2012. *Domestikasi Ikan Gabus, Channa Striata Blkr, Upaya Optimalisasi Perairan Rawa Di Provinsi Kalimantan Selatan Snakehead Domestication, Channa StriataBlkr, Swamp Water Optimization Efforts in South Kalimantan Province. September 2006*.
- Charter, F. L., Carlo, A. M., & Stanley, J. B. 1978. Termiticidal Components of Sorption onto Physically Pretreated *Rosa centifolia* Distillation Waste Biomass. *African Journal of Biotechnology*, 9(53), 9051–9062.
- Depkes. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Edward. 2010. *Pengamatan kadar merkuri di perairan teluk Kao (Halmahera) dan perairan Anggai (Pulau Obi)*. Directorate of Research and Community Engagement, Universitas Indonesia. <http://journal.ui.ac.id/index.php/science/article/view/500>
- Fadillah, R. L. 2016. Analisis Kadar Logam Timbal (Pb) Pada Sampo Dengan Variasi Metode Destruksi Basah dan Zat Pengoksidasi Menggunakan Spektroskopi Serapan Atom (SSA). *Skripsi*, 152(3), 28. file:///Users/andreaquez/Downloads/guia-plan-de-mejora-institucional.pdf%0Ahttp://salud.tabasco.gob.mx/content/revista%0Ahttp://www.revistaalad.com/pdfs/Guias_ALAD_11_Nov_2013.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.60060.%0Ahttp://www.cenetec.
- Faisal, A. 2015. Karakteristik Fisik Daging Sapi Bali Prarigor yang Dimarinasi Ekstrak Kakao pada Waktu dan Level yang Berbeda. *Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin*.
- Fitri, D. S., Widiyantoro, A., & Gusrizal. 2019. Potensi Fraksi Etil Asetat dari Buah Mangga (*Mangifera* spp.) sebagai Pengompleks Logam Pb(II) dan Isolasi Senyawa Flavonoidnya. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(1), 65–70.
- Gam, L.H, Leow, C.Y, & Baie, S. 2006. Proteomic analysis of snakehead fish (*Channa striata*) muscle tissue. *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 14(1), 25–32.
- Ghozali, I. 2016. *Aplikasi Analisis Multivariete Dengan Program Pada PT. XL AXIATA Tbk. Dan PT. INDOSAT Tbk” IBM SPSS 23 (Edisi 8)*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Ginting, A. 2012. *Esensi Praktis Belajar & Pembelajaran (Disiapkan untuk Pendidikan Profesi dan Sertifikasi Guru-Dosen)*. Humaniora.
- Handayani, R. I. 2015. Akumulasi Logam Berat Kromium (Cr) Pada Daging Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp). *Skripsi*, 1–46.
- Hasfita, F. 2012. Study Pembuatan Biosorben Dari Limbah Daun Akasia Mangium (*Acacia mangium* wild) Untuk Aplikasi Penyisihan Logam. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 1, 36–48. www.ft.unimal.ac.id/jurnal_teknik_kimia
- Haswel, S. 1991. *Atomic Absorption Spectrometry, Theory, Design, and Application*. Elsevier Ltd.
- Hidayati, N., Syarif, F., & Juhaeti, T. 2016. Pemanfaatan *Salvinia Molesta* D.S. Mitchell, Akumulator Merkuri Di Sawah Tercemar Limbah Penambangan Emas. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 10(3), 249. <https://doi.org/10.29122/jtl.v10i3.1470>
- Indrajaya, F., & Virgiyanti, L. 2019. Analisa Kandungan Merkuri (Hg) Di Wilayah Penambangan Emas Danau Payawan Desa Tumbang Panggo Kecamatan Tasik Payawan Kabupaten Katingan. *Promine*, 7(2), 59–64. <https://doi.org/10.33019/promine.v7i2.1646>
- Kemenkes. 2021. *Pedoman Dan Standar Etik*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kusuma, A. T., Effendi, N., Abidin, Z., & Awaliah, S. S. 2019. Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Dan Raksa (Hg) Pada Cat Rambut Yang Beredar Di Kota Makassar Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). *Celebes Environmental Science*, 1(April), 6–12. <http://journal.ildikti9.id/CAE>
- Lusiana, Linda, R., & Mukarlina. 2013. Respon pertumbuhan stek batang sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) setelah direndam dalam urin sapi. *Protobiont*, 2(3), 157–160. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v2i3.3886>

- Machfoedz, I., & Suryani, E. 2007. *Pendidikan Kesehatan Bagian Dari Promosi Kesehatan*. Fitrayama.
- Manuhutu, O. 2009. Penetapan Kadar Lidokain HCl Dalam Sediaan Injeksi Secara Spektrofotometri Serapan Atom Tidak Langsung. *Skripsi*, 66.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill). *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE*, 1(1), 24–28.
- Maulidah, Priatmadi, B. J., Asmawi, S., & Sofarini, D. 2015. Kajian Indeks Pencemaran Air Pada Areal Pertambangan Rakyat Intan Dan Emas Di Kecamatan Cempaka Kota Banjarbaru. *EnviroScienteeae*, 11, 102–110.
- Melannisa, R., Trisharyanti, I., Suhendi, A., Da', M., Ilham, A., & Atmaja, K. 2011. Antioxidant Activity Assay of Ethanol Extract of *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, and *Anethum graveolens* L Fruit by DPPH Methode with Determination of Total Phenolic Content. *Pharmacoon*, 12(2), 78.
- Mentayani, I. 2019. Karakteristik Kawasan Permukiman. *Jurnal Teknika*, 3(1), 72–81.
- Mudiana, D., Renjana, E., Firdiana, E. R., Ningrum, L. W., Angio, M. H., & Irawanto, R. 2019. Daur Optimum Pemangkasan Daun Kayu Putih Di KPH Yogyakarta. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*, 9(2), 83–92.
- Mus, S., & Leksono, T. 2004. Studi Mutu dan Preferensi Konsumen Terhadap Marinade Kerang Bulu (*Anadara inaequalis*). *Universitas Riau Pekanbaru*.
- Mustikasari, K., & Ariyani, D. 2010. The Phytochemistry Screening of Methanol Extract From Kalangkala (*Litsea Angulata*) Seeds. *Kimia FMIPA Unlam*, 131–136.
- Nikmah, N., & Yamani, A. Z. 2022. Menakar Urgensi Pengetahuan K3 bagi Calon Teknisi Pertambangan di Kalimantan Selatan. *Lentera: Jurnal Ilmiah Kependidikan*, 1, 249–255. <https://doi.org/10.33654/iseta.v1i0.1697>
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Pendidikan dan Perilaku Kesehatan*. Rineka Cipta.
- Oktavyandika, W. M. D. 2017. *Kandungan Logam Berat (Cr, Cu, Pb, da Zn) Pada Daging Ikan Gabus (Channa striata) Di Sungai Gunungsari Das Brantas Surabaya*. Universitas Jember.
- Permenkes. 1990. *Peraturan Menteri Kesehatan No . 416 Tahun 1990 Tentang: Syarat-syarat Dan Pengawasan Kualitas Air. 416*.
- Permenkes. 1998. *Keputusan Menteri Kesehatan No . 261 / MENKES / SK / II / 1998 Tentang : Persyaratan Kesehatan Lingkungan Kerja. 261*.
- Permenkes. 2002. *Syarat-Syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum. 1–21*.
- Pujiarti, R., Ohtani, Y., & Ichiura, H. 2011. Physicochemical properties and chemical compositions of *Melaleuca leucadendron* leaf oils taken from the plantations in Java, Indonesia. *Journal of Wood Science*, 57(5), 446–451. <https://doi.org/10.1007/s10086-011-1183-0>
- Purnama, S. G. 2016. *Buku Ajar Penyakit Berbasis Lingkungan. Ministry of Health of the Republic of Indonesia*, 112.
- Purnamasari, E., Fazilah, Y., Whz, N., & Febrina, D. 2013. *Sifat Fisik Dan Kimia Daging Sapi Yang Dimarinasi Jus Buah Pinang (Areca catechu L.)*. 216–226.
- Rahmawati, N. K., Winarni, E., & Payung, D. 2020. Pertumbuhan Bibit Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi*) pada Berbagai Kombinasi Kompos Seresah Daun Kiara Payung (*Filicium* sp) dan Pupuk Kandang sebagai Media *Jurnal Sylva Scienteeae*, 03(2), 385–393. <http://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/jss/article/view/1990>
- Riani, E. 2016. Kontaminasi Merkuri (Hg) Dalam Organ Tubuh Ikan Petek (*Leiognathus equulus*) Di Perairan Ancol, Teluk Jakarta. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 11(2), 313. <https://doi.org/10.29122/jtl.v11i2.1216>
- Riani, E., Sudarso, Y., & Cordova, M. R. 2014. Heavy metals effect on unviable larvae of *Dicrotendipes simpsoni* (Diptera: Chironomidae), a case study from Saguling Dam, Indonesia. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 7(2), 76–84.
- Robi, R., Aritonang, A., & Juane Sofiana, M. S. 2021. Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Air dan Sedimen di Perairan Samudera Indah Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 4(1), 20. <https://doi.org/10.26418/lkuntan.v4i1.44922>
- Rohman, A. 2016. *Kimia farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Romsiah, R., Marista, S. L., & Fatoni, A. 2017. Validasi Metode Dan Penetapan Kadar Nitrit (NO₂-) Pada Sosis Sapi Curah Dan Sosis Sapi Kaleng Yang Dijual Di Swalayan Kota Palembang Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Semantik*

- Scholar.
<https://doi.org/10.36434/scientia.v7i2.126>
- Santoso, F. J., Wahyudi, H. I., & Isrun. 2014. Evaluasi Kandungan Logam Berat Merkuri (Hg) Pada Beberapa Tanaman Pangan dan Palawija di Sekitar Areal Pengolahan Tambang Emas di Kelurahan Poboya, Kota Palu. *E-J. Agrotekbis*, 2(2), 138–145.
- Saryono. 2011. *Metodologi penelitian keperawatan*. UPT. Percetakan dan Penerbitan UNSOED.
- Satriyani, D. P. P. 2021. Review artikel: Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Jurnal Farmasi Malahayati*, 4(1), 31–43.
<https://doi.org/10.33024/jfm.v4i1.4263>
- Saurmaria, R. M., & Utomo, W. H. 2017. Kajian Sifat Fisik Tanah Pada Berbagai Umur Tanaman Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi*) di Lahan Bekas Tambang Batubara PT Bukit ASam (PERSERO). *Jurnal Tanah Dan Sumberdaya Lahan*, 4(2), 525–531. <http://jtsl.uib.ac.id>
- Septyaningsih, D. 2013. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)*. Repository UNS. <http://eprints.uns.ac.id/6044/1/138961008201010291.pdf%0Ahttp://eprints.uns.ac.id/6044/>
- Seran, & Hidajat. 2017. *Pedoman Etika Penelitian Unika Atma Jaya* (Vol. 13, Issue 1). Penerbit Kanisius.
- Setiawan, A., Yulianto, B., & Wijayanti, D. P. 2013. Pengaruh Depurasi Terhadap Konsentrasi Logam Berat Timbal (Pb) Dan Kadmium(Cd) Dalam Jaringan Lunak Kerang Darah (*Anadara Granosa*). *Journal of Marine Research*, 2(4), 23–30.
- Setiyono, A. 2012. Pengaruh Konsumsi Ikan Dan Hasil Pertanian Terhadap Kadar Hg Darah. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 7(2), 110–116.
- Setyawati, E., Nurasmii, N., & Irnawati, I. 2021. Studi Analisis Zat Gizi Biskuit Fungsional Substitusi Tepung Kelor dan Tepung Ikan Gabus. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(1), 94–104. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i1.516>
- Sugiyono. 2017a. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D* (CV. Alfabes).
- Sugiyono. 2017b. *Metode Penelitian Pendekatan Kuantitatif Kualitatif*. Penerbit Media Sains Indonesia.
- Suryani, A., Nirmala, K., & Djokosetyanto, D. 2018. The Accumulation of Heavy Metal (Lead And Copper) in Milkfish (*Chanos-Chanos*, Forskal) Ponds From Dukuh Tapak, Kelurahan Tugurejo, Semarang. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 8(3), 271–278. <https://doi.org/10.29244/jpsl.8.3.271-278>
- Swarjana, I. K. 2015. *Metodologi penelitian kesehatan (edisi revisi)*. Andi.Yogyakarta
- Syapitri, H., Amili, & Juneris, A. 2021. *Buku Ajar Metodologi Penelitian Kesehatan*. Ahlimedia Press.
- Ulfah, S., Rachmadiarti, F., & Raharjo. 2014. Upaya Penurunan Logam Berat Timbal pada *Mystus nigriceps* di Kali Surabaya Menggunakan Filtrat Kulit Nanas. *Skripsi Jurusan Biologi Universitas Negeri Surabaya*.
- USDA. 2014. *Usda Food and Nutrient Database for Dietary Studies 2011-2012: Documentation and User Guide*. 1–112. <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnr/cfsrg>
- Veronika. 2020. *Peranan Ekstrak Etanol Daun Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir) Dalam Menurunkan Kadar Logam Berat Merkuri Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom*. Doctoral dissertation, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
- Walpole, R. E. 1995. *Pengantar Statistik*. Gramedia. Institusi : Institut Agama Islam Ma'arif NU Metro Lampung
- Wibowo, H., Minarno, A. E., Nurpratama, D., Wicaksono, G. W., Suharso, W., Harmanto, D., & Kingdom, U. 2020. Impact Evaluation of Procedurally Content Generated Against Immersion Games Using ANOVA. *International Conference on Information and Communication Technology*.
- Widiyanto, J. 2010. *SPSS for Windows Untuk Analisis Data Statistik dan Penelitian*. BP-FKIP UMS.
- Yuhernita, & Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 15(1), 48–52.
- Zamzami, A. D. R., Yasmina, A., & Isnaini. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu dan Daun Galam dengan Metode BSLT. *Homeostasis*, 4(1), 43–48.