

Pengembangan Biosensor Antioksidan Berbasis *3-metil-2-benzothiazolin hidrazon* (MBTH) dan Enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO) untuk Kontrol Kualitas Serbuk Kopi

Agus Abdul Gani^{1*}, Moch. Amrun Hidayat², Bambang Kuswandi²

¹⁾PMIPA-FKIP, Universitas Jember

²⁾Fakultas Farmasi, Universitas Jember (UNEJ)

*E-mail: agusagani@yahoo.com

ABSTRAK

Pengembangan alat uji antioksidan sederhana telah dilakukan melalui desain, konstruksi dan fabrikasi biosensor berbasis *3-metil-2-benzothiazolin hidrazon* (MBTH) dan enzim *polyphenol oxidase* (PPO). Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan sampel kopi yakni dengan mengukur perubahan warna yang ditimbulkan oleh interaksi senyawa antioksidan dalam kopi dengan reagen MBTH dan enzim PPO. Desain sensor menggunakan matriks pendukung *blister* dan *96 multiwellplate* yang kecil, kompak dan sederhana sehingga mudah di bawa kemanapun (*portable*). Kontribusi dari penelitian ini adalah memberikan solusi nyata, berupa alat dan metode penentuan kualitas kopi, sehingga kualitas kopi Indonesia dapat ditingkatkan melalui *screening* menggunakan biosensor antioksidan yang dapat dioperasikan secara cepat, tepat, mudah dan murah. Selain itu, penelitian ini merupakan bagian dari penelitian unggulan Universitas Jember 2013-2020 yakni “Kopi untuk kesejahteraan Nasional”. Fabrikasi biosensor dengan menggunakan reagen MBTH yang dipadu dengan enzim PPO, dan diimobilisasikan pada material pendukung telah berhasil dilakukan. Biosensor antioksidan hasil fabrikasi memiliki waktu respon 14 menit, linieritas (25-300) ppm, volume larutan sampel optimum 4 μ L, linieritas 0,997 dengan sensitifitas 0,085 ppm, LOD 20,601 ppmCE, LOQ 68,671 ppmCE, RSD kepresisian 3,111 %, keakuratan (recovery) 103,068 %. Aplikasi biosensor terhadap sampel nyata memberikan hasil yang tidak berbeda dengan penggunaan metode spektroskopi yang telah distandarkan. Berarti biosensor antioksidan berbasis MBTH dan PPO hasil fabrikasi memiliki kelayakan untuk diaplikasikan penentuan kualitas serbuk biji kopi.

Kata Kunci : Biosensor, Antioksidan, Serbuk biji kopi

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu jenis minuman yang disukai oleh seluruh lapisan masyarakat karena kopi memiliki banyak manfaat. Manfaat yang dimiliki oleh minuman kopi berasal dari kandungan bioaktif yang terdapat dalam biji kopi (AEKI, 2005). Senyawa antioksidan dalam biji kopi memiliki aktivitas sebagai antikanker (Ayelign, A., & Sabally K.2013), antiinflamasi (Belay, A., Gholap, A.V.2009), antibakteri. Dari berbagai studi ilmiah diketahui bahwa kopi memiliki efek positif terhadap kesehatan. Kopi dapat menurunkan resiko penyakit diabetes, menurunkan resiko penyakit Parkinson serta meningkatkan kesadaran dan suasana hati. Efek farmakologi kopi tersebut terkait erat dengan kandungan senyawa antioksidan di dalamnya seperti kafein, asam klorogenat dan asam galat.

Jumlah kandungan antioxidant merupakan parameter utama kualitas produk serbuk biji kopi yang dapat menentukan cita rasa (Bisht, 2010). Berbagai metode dikembangkan untuk mendeteksi senyawa antioksidan di dalam kopi, misalnya dengan teknik kromatografi (HPLC) atau spektroskopi. Metode HPLC dan spektrofotometri UV-Vis banyak digunakan untuk mendeteksi asam klorogenat dan kafein. Aktivitas antioksidan kopi telah diuji dengan berbagai metode spektrometri seperti metode FRAP, ABTS, DPPH dan HPLC-ABTS (Al-Othman et.al, 2012; Ayelign,

AK.(2013); López-Martínez et al. 2003, Stalmach, et al.2006). Namun demikian, metode spektrometri dan kromatografi tersebut memiliki beberapa kelemahan, yakni: membutuhkan peralatan yang relatif mahal, analisis harus memiliki pengetahuan dan keterampilan kimia analisis yang memadai, waktu analisis yang relatif lama serta membutuhkan volume sampel yang relatif besar. Oleh karenanya dibutuhkan alternatif metode pengujian aktifitas antioksidan kopi yang cepat, tepat, murah dan mudah.

Pengembangan alat uji antioksidan sederhana dapat dilakukan melalui desain, konstruksi dan fabrikasi biosensor enzim yang spesifik terhadap keberadaan senyawa antioksidan [Oestreich-Janzen, S. (2010)]. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan sampel kopi yakni dengan mengukur perubahan warna yang ditimbulkan oleh interaksi antara senyawa antioksidan dalam kopi dengan enzim. Desain sensor menggunakan matriks pendukung *blister* dan *96 multiwellplate* yang kecil, kompak dan sederhana sehingga mudah di bawa kemanapun (*portable*).

Penelitian ini dilakukan bertujuan, memberikan solusi alternative cara kontrol kualitas kopi secara mudah dan cepat, melalui fabrikasi atau mendesain biosensor berbasis *imobilisasi* enzim yang spesifik terhadap keberadaan senyawa antioksidan seperti *polyphenol oxidase* (PPO). Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan sampel kopi yakni dengan mengukur

perubahan warna yang ditimbulkan oleh interaksi senyawa antioksidan dalam kopi dengan enzim PPO (Farah, A., & Donangelo, C.M., 2006). Desain sensor menggunakan matriks pendukung *blister* dan *96 multiwellplate* yang kecil, kompak dan sederhana sehingga mudah di bawa kemanapun (*portable*). Berdasarkan perubahan warna sensor dan intensitasnya, dapat ditentukan kandungan senyawa antioksidan dalam kopi.

Biosensor hasil fabrikasi selanjutnya dilakukan uji kapabilitas yang meliputi waktu respon, linieritas, keakuratan dan kepresisian sensor dalam proses deteksi dan determinasi antioksidan dalam biji beras kopi. Kapabilitas sensor juga dibandingkan dengan metode yang sudah distandarkan, yaitu Spektrometri UV-Vis.

Kontribusi dari penelitian ini adalah memberikan solusi nyata, berupa alat dan metode penentuan kualitas kopi, sehingga kualitas kopi Indonesia dapat ditingkatkan melalui *screening* kualitas kopi menggunakan biosensor antioksidan yang dapat dioperasikan secara cepat, tepat, mudah dan murah. Selain itu, penelitian ini merupakan bagian dari penelitian unggulan Universitas Jember 2013-2020 yakni “Kopi untuk Kesejahteraan Nasional”.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengembangkan biosensor antioksidan dengan menggunakan enzim PPO yang dipadu dengan 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon (MBTH). Alat yang digunakan pada penelitian meliputi seperangkat alat gelas, mikro pipet, timbangan analitik, lemari es, botol semprot, vial, gunting, *scanner canoscan* LIDE 110, kuvet, spektrofotometer UV-Vis, dan *stopwatch*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim PPO, MBTH (Fluka), Asam Klorogenat 99% p.a, aquadest, dapar fosfat pH 7, blister obat sebagai pencetak biosensor, dan sampel larutan biji beras kopi.

Langkah awal dalam fabrikasi biosensor dilakukan dengan cara mengimobilisasikan enzim Polyphenol Oksidase (PPO) dan reagen MBTH ke material gel pendukung. Enzim tersebut diteteskan pada blister obat. Blister obat yang telah terisi gel dan terimobilisasi enzim selanjutnya dikeringkan selama 30 menit untuk membentuk biosensor polifenol. Optimasi yang dilakukan dalam pembuatan biosensor meliputi optimasi konsentrasi PPO dan MBTH, optimasi perbandingan volume PPO dan MBTH, optimasi volume terhadap perubahan warna. Karakterisasi sensor antioksidan yang dilakukan meliputi penentuan waktu respon, linieritas, sensitivitas, batas deteksi, batas kuantitasi, selektivitas, presisi, akurasi serta stabilitas sensor antioksidan. Wujud sensor hasil fabrikasi berupa lembaran/butiran sensor, kapabilitas sensor berdasarkan interaksinya dengan antioksidan dalam larutan sampel kopi dipaparkan sebagaimana data-data dan gambar-gambar berikut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biosensor yang dihasilkan memberikan warna keunguan, namun ketika sensor tersebut diaplikasikan pada sampel terjadi perubahan warna dari ungu menjadi berwarna merah. Hal tersebut disebabkan karena terjadi oksidasi polifenol karena adanya enzim PPO yang menghasilkan kuinon, kemudian kuinon berikatan dengan MBTH membentuk kompleks berwarna merah kecoklatan, sebagaimana dipaparkan pada Gambar 1.

Optimasi Konsentrasi MBTH

Optimasi MBTH, terjadinya perubahan warna dapat diamati seperti pada Gambar 2. Secara visual perubahan warna dapat teramati secara jelas pada biosensor polifenol yang diimobilisasi oleh reagen dengan konsentrasi MBTH sebesar 6,0 mg/mL; 12,0 mg/mL dan 24,0 mg/mL seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Sedangkan nilai $\Delta mean RGB$ yang paling tinggi diperoleh dari penggunaan MBTH dengan konsentrasi 24,0 mg/mL yaitu sebesar 27,925. Namun pada konsentrasi 12 mg/mL $\Delta mean RGB$ yang dihasilkan cukup tinggi pula yaitu 27,665. Sehingga penggunaan MBTH dengan konsentrasi 12,0 mg/mL dinilai paling optimal baik berdasarkan perubahan warna yang dapat teramati secara visual, nilai $\Delta mean RGB$ serta efisiensi bahan.

Optimasi Perbandingan Volume Reagen

Optimasi perbandingan volume reagen dilakukan untuk menentukan perbandingan volume MBTH dengan enzim PPO yang mampu memberikan hasil yang optimal. Hasil dari optimasi perbandingan volume reagen yang telah direaksikan dengan kafein 150 ppm ditunjukkan pada Gambar 3.

Gambar 3, menunjukkan bahwa perbandingan 1:1 merupakan nilai perbandingan yang paling optimal, dengan nilai $\Delta mean RGB$ yang paling besar yaitu 27,903. Perbandingan 1:1 menunjukkan volume MBTH dan enzim PPO yang diimobilisasikan pada *chip* kertas adalah sebanyak 5,0 ml MBTH 12 mg/mL dan 5,0 ml PPO 500 unit/mL.

Waktu Respon Sensor

Waktu respon sensor berdasarkan intensitas sinyal yang dihasilkan didapatkan bahwa intensitas sinyal mulai stabil setelah mencapai waktu 14 menit, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4. Dengan demikian berarti waktu respon sensor kimia berbasis enzim PPO dan 3-metil-2-benzothiazolinon (MBTH) untuk deteksi polifenol adalah 14 menit.

Optimasi Volume Larutan Reagen

Penentuan volume reagen ini bertujuan untuk menentukan volume reagen yang optimal. Reagen yang dimaksudkan disini adalah campuran MBTH dan enzim PPO dengan perbandingan 1:1. Konsentrasi MBTH yang digunakan ialah 12 mg/mL sedangkan konsentrasi enzim PPO sebesar 500 unit/mL. Optimasi volume

larutan sampel dalam proses deteksi fenolat dilakukan dengan memvariasikan volume larutan sampel dan

metode pencelupan. Selanjutnya antara kedua metode di tetapkan optimasi terbaik untuk volume larutan sampel.



kontak dengan larutan sampel



Sesudah kontak dengan larutan sampel

Sebelum

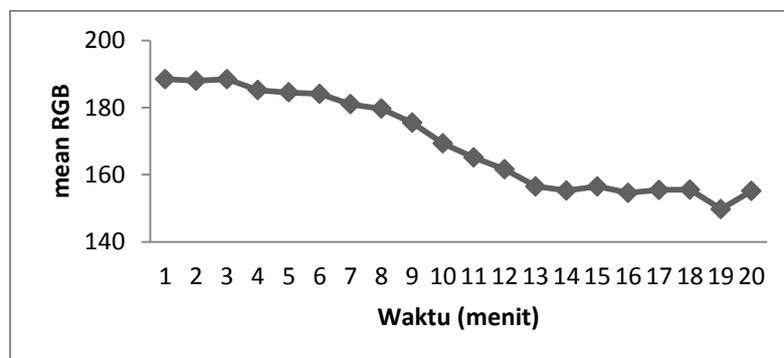
Gambar 1. Wujud sensor hasil fabrikasi dan perubahan warna sensor.



Gambar 2. Perubahan warna yang terjadi pada optimasi konsentrasi MBTH



Gambar 3. Perubahan warna yang terjadi pada optimasi perbandingan volume reagen MBTH (m) dan enzim PPO (e)



Gambar 4. Waktu respon biosensor

Optimasi dilakukan dengan menggunakan cairan berwarna dikarenakan reagen yang digunakan memiliki warna putih kekuningan sehingga sukar untuk diidentifikasi seberapa besar area yang telah terbasahi atau tertutupi oleh reagen. Berdasarkan optimasi yang telah dilakukan, dapat dilihat bahwa dengan volume 5,0 μ L larutan mampu menutupi seluruh area *chip* kertas dan waktu untuk pengeringan cukup cepat yaitu selama 8,35 menit. Setelah direaksikan dengan standar katekin 150 ppm, reagen dengan volume 5,0 μ L juga dapat memberikan perubahan warna pada area yang cukup luas dan cukup jelas diamati secara visual. Sehingga volume reagen sebanyak 5,0 μ L dinilai merupakan volume yang optimal.

Optimasi Volume Larutan Sampel

Optimasi volume larutan sampel dalam proses deteksi fenolat dilakukan dengan memvariasikan volume larutan sampel dan metode pencelupan. Selanjutnya antara kedua metode di tetapkan optimasi terbaik untuk volume larutan sampel. Data hasil pengukuran dipaparkan sebagaimana Tabel 1.

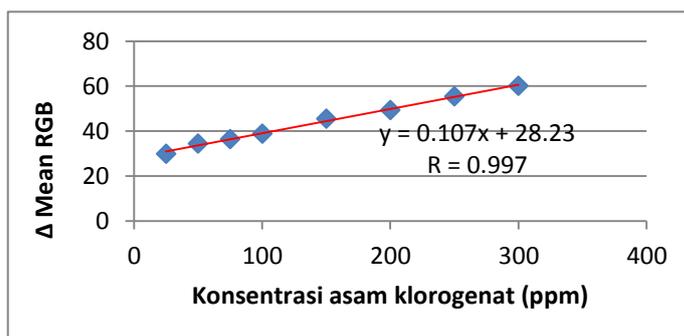
Berdasarkan data pada Tabel 1, didapatkan realita bahwa metode celup dengan menggunakan sensor didapatkan intensitas RGB 52,828. Berdasarkan variasi volume larutan sampel, didapatkan bahwa volume larutan sampel yang dialirkan untuk berinteraksi dengan sensor terbaik, yang sesuai dengan metode celup adalah 4 μ L memberikan intensitas RGB 52, 389, mendekati teknik celup.

Tabel 1. Data optimasi volume larutan sampel.

Aplikasi	Mean RGB Blangko			Mean RGB			Δmean RGB			rata-rata	SD
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3		
Celup	236.144	235.173	235.820	182.760	182.891	183.003	53.384	52.282	52.817	52.828	0.551
1 μL	237.023	236.983	235.923	210.983	210.762	208.023	26.040	26.221	27.900	26.720	1.026
2 μL	236.927	236.541	236.029	200.982	200.004	200.753	35.945	36.537	35.276	35.919	0.631
3 μL	237.029	236.128	235.028	187.923	186.430	185.532	49.106	49.698	49.496	49.433	0.301
4 μL	235.087	235.762	235.948	182.932	183.934	182.763	52.155	51.828	53.185	52.389	0.708
5 μL	235.982	235.387	236.082	178.437	178.520	179.032	57.545	56.867	57.050	57.154	0.351
6 μL	235.982	235.772	234.012	176.730	176.421	177.376	59.252	59.351	56.636	58.413	1.540

Tabel 2 Data hasil pengukuran polifenol dalam sampel nyata menggunakan biosensor polifenol hasil fabrikasi

Sampel	Konsentrasi polifenol (ppm CE)
A (Robusta 100%)	164,224 ± 1,318
B (Arabika 100%)	216,809 ± 5,886
C (Blend robusta : arabika = 9:1)	116,948 ± 0,768
D (Blend robusta : arabika = 3:1)	161,598 ± 3,101
E (Green Coffee robusta)	129,944 ± 2,469



Gambar 5. Kurva linieritas, Data ditunjukkan dengan rata-rata ± SD (n=3).

Tabel 3. Data perbandingan konsentrasi polifenol (ppm CE) dalam sampel menggunakan metode biosensor polifenol dan FC (n=3)

Sampel	Konsentrasi polifenol (ppm CE)	
	Biosensor polifenol	FC
A (Robusta 100%)	164,224 ± 1,318	178,589 ± 2,478
B (Arabika 100%)	216,809 ± 5,886	232,756 ± 1,566
C (Blend robusta : arabika = 9:1)	116,948 ± 0,768	111,301 ± 0,914
D (Blend robusta : arabika = 3:1)	161,598 ± 3,101	158,879 ± 3,867
E (Green Coffee robusta)	129,944 ± 2,469	134,135 ± 0,855

Linieritas Sensor dan Sensitivitas

Penentuan linieritas dilakukan dengan membuat seri konsentrasi standar asam klorogenat 25-300 ppm. Standar asam klorogenat diteteskan pada biosensor polifenol dan kemudian diukur perubahan intensitas warna yang terjadi (Δ mean RGB). Realitanya dapat

diketahui bahwa adanya hubungan yang proporsional antara konsentrasi analit terhadap respon dari biosensor polifenol. Linieritas berada pada rentang 25-300 ppm dengan persamaan regresi $y = 0,107x + 28,231$. Linieritas tersebut telah memenuhi parameter linieritas dengan nilai koefisien korelasi (r) mendekati ±

1 (Harmita, 2004) dan lebih besar dari $r_{tabel} = 0,917$ (Supardi, 2012) dengan nilai r yang dihasilkan adalah 0,997 dan nilai koefisien variasi dari fungsi ($V \times 0$) tidak lebih besar dari 5% (Yuwono, M. & Indrayanto, G., 2005) yaitu sebesar 4,7%. Linieritas sensor ditunjukkan sebagaimana Gambar 5.

Berdasarkan persamaan regresi, nilai slope yang dihasilkan sebesar 0,107. Nilai tersebut dapat diartikan bahwa dengan adanya perubahan konsentrasi sebesar 1 ppm *CE* akan mengakibatkan perubahan Δ *mean RGB* sebesar 0,107.

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas terkecil konsentrasi polifenol *CE* dalam sampel yang masih dapat terdeteksi oleh biosensor polifenol dapat diketahui dengan menentukan batas deteksi dan batas kuantitasi biosensor polifenol. Berdasar data linieritas, simpangan baku residual (Sy/x) data linieritas tersebut sebesar 0,5324. Sehingga didapatkan nilai untuk batas deteksi adalah 20,601 ppm *CE* dan batas kuantitasi biosensor polifenol adalah 68,671 ppm *CE*.

Selektivitas

Penentuan selektivitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari metode ini untuk mengukur kadar polifenol secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang ada dalam sampel. Komponen lain yang sering ada dalam beberapa sampel minuman kopi adalah gula sebagai pemanis. Keberadaan gula ini cukup sering ditemukan sehingga dilakukan uji selektivitas biosensor polifenol ini terhadap gula. Penentuan selektivitas dilakukan menggunakan asam klorogenat dengan gula adalah 1:0,67 ; 1:1,34 ; 1:2,00 ; 1:2,67 dan 1:3,33. Selektivitas ditentukan dengan cara mengukur nilai *mean RGB* dari standar asam klorogenat 150 ppm dengan adanya pengganggu gula dibandingkan dengan standar asam klorogenat 150 ppm yang tidak mengandung pengganggu gula. Realita menunjukkan bahwa keberadaan gula tidak berpengaruh sebagai pengganggu dari kerja biosensor polifenol. Penambahan gula sampai sebesar 500 ppm pada standar asam klorogenat 150 ppm atau dengan perbandingan antara asam klorogenat dan gula sebesar 1:3,33 memberikan nilai interferensi 4,117 %. Nilai tersebut masih lebih rendah dari nilai % interferensi yang diperbolehkan yaitu 5% (Yuwono dan Indrayanto, 2005), berarti biosensor layak digunakan.

Presisi

Presisi merupakan hasil pengulangan pengukuran yang menunjukkan kedekatan respon biosensor polifenol. Pengukuran sampel direplikasi sebanyak 6 kali. Hasil pengukuran kepresisian didapatkan persamaan regresi yang berdasar kurva kalibrasi adalah $y = 0,1091x + 28,11$. Sampel yang digunakan adalah kopi Arabika. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui rata-rata kadar polifenol dalam

sampel sebesar 155,420 ppm *CE*. Nilai *RSD* yang didapatkan adalah 3,111%. Sedangkan kriteria penerimaan nilai *RSD* berdasarkan konsentrasi analit yang diperiksa adalah 5,3% untuk analit dengan konsentrasi sekitar 100 ppm *CE* (Huber, 2007). Karena nilai *RSD* yang dihasilkan oleh biosensor polifenol ini lebih kecil dari 5,3% maka dapat dikatakan bahwa biosensor polifenol memenuhi persyaratan parameter presisi.

Akurasi

Akurasi ditentukan dengan menghitung nilai % perolehan kembali, dilakukan dengan metode standar adisi yaitu dengan menambahkan standar asam klorogenat konsentrasi tertentu pada sampel kopi Arabika. Berdasarkan data didapatkan bahwa nilai perolehan kembali sampel adalah sebesar 103,068 %. Nilai tersebut memenuhi persyaratan parameter akurasi untuk konsentrasi analit sekitar 100 ppm *CE* yaitu 90-107% (Huber, 2007).

Waktu Pakai

Waktu pakai biosensor polifenol ini ditentukan dari stabilitasnya. Pada penelitian dilakukan pengujian stabilitas pada 3 kondisi yaitu suhu ruang ($\pm 27^\circ\text{C}$), suhu *chiller* (2-8 °C) dan suhu *freezer* [(-20)-(0)°C]. Waktu pakai habis jika respon yang dihasilkan mengalami penurunan 15% dari respon awal. Penurunan terjadi lambat pada biosensor yang disimpan pada suhu *freezer*. Pada suhu *freezer* penurunan respon biosensor polifenol lebih 15% terjadi pada hari ke-9, pada suhu *chiller* pada hari ke-5 dan pada suhu ruang terjadi pada hari pertama. Sehingga penetapan batas waktu pakai pada suhu *freezer* adalah selama 8 hari dan pada suhu *chiller* selama 4 hari. Sedangkan penyimpanan pada suhu ruang harus dihindari karena biosensor polifenol ini tidak stabil di suhu ruang dan waktu pakai akan langsung habis dalam 1 hari saja jika dilakukan penyimpanan di suhu ruang.

Aplikasi Sampel Nyata

Sampel yang digunakan merupakan produk minuman kopi dalam kemasan botol plastik. Sampel didapat dari supermarket dan minimarket yang berada di wilayah Jember. Sampel yang diuji terdiri dari 5 merk yang telah diberi kode A (Robusta 100%), B (Arabika 100%), C (Blend robusta : arabika = 9:1), D (Blend robusta : arabika = 3:1), dan E (Green Coffee robusta). Pengujian sampel pada biosensor polifenol dilakukan dengan meneteskan sampel pada biosensor yang sebelumnya telah ditetesi larutan mediator. Setelah 15 menit perubahan warna yang terjadi diukur. Kemudian dihitung konsentrasi polifenol dalam sampel dengan memasukkan nilai Δ *mean RGB* (y) ke dalam persamaan garis kurva hubungan antara konsentrasi asam klorogenat dengan Δ *mean RGB*, $y = 0,1088x + 28,11$ ($r = 0,997$). Dari persamaan diperoleh konsentrasi polifenol (x) dari masing-masing sampel yang setara dengan ppm *CE*. Hasil dari pengujian sampel

menggunakan biosensor polifenol dapat dilihat pada Tabel 2.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat Berdasarkan hasil penelitian, fabrikasi biosensor antioksidan yang telah dibuat, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut. (1) Biosensor antioksidan kualitas kopi telah berhasil difabrikasi menggunakan reagen 3-metil-2-benzothiazolinon (MBTH), enzim PPO yang diimobilisasikan pada kertas whatman. (2) Biosensor antioksidan hasil fabrikasi dari sisi waktu respon, linieritas dan batas deteksi, selektivitas, kepresisian, akurasi, waktu pakai, memiliki kapabilitas yang layak untuk mengidentifikasi kualitas kopi melalui larutan berasan kopi. (3) Determinasi kualitas kopi dengan menggunakan biosensor antioksidan hasil fabrikasi memberikan kuantitas yang sama (tidak berbeda nyata) dengan metode deteksi yang sudah distandarkan, berarti biosensor antioksidan hasil fabrikasi memiliki kelayakan diaplikasikan untuk menentukan kualitas kopi di lapangan dengan operasional yang sederhana, cepat dan biaya murah.

DAFTAR PUSTAKA

- AEKI. (2005). Statistik Kopi Tahun 2003-2005. Asosiasi Eksportir Kopi Indonesia, Jakarta.
- Al-Othman, Z.A., Aqel, A., Alharbi, M.K.E., Badjah-Hadj-Ahmed, A.Y., Al-Warthan, A.A. (2012). Fast Chromatographic Determination Of Caffeine In Food Using A Capillaryhexyl Methacrylate Monolithic Column. *Food Chemistry*. 132: 2217–2223.
- Ayelnig, A., Sabally K. (2013). Determination Of Chlorogenic Acids (CGA) In Coffee Beans Using HPLC. *American Journal of Research Communication*, 1,2, 78-91.
- Belay, A., Gholap, A.V. (2009). Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3,11, 234-240.
- Bisht, S., Sisodia, S. (2010). Coffea arabica: A wonder gift to medical science. *J. Natural Pharmaceutics*, 1, 1, 58-65.
- Farah, A., Donangelo, C.M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.*, 18, 1, 23-36.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3):117 – 135.
- Kuswandi B, 2010b. *Biosensor (Konsep, Desain & Eksperimentasi)*. Jember: Jember University Press.
- López-Martínez, L., López-de-Alba, P.L., García-Campos, R., León-Rodríguez, L.M.D. (2003). Simultaneous determination of methylxanthines in coffees and teas by UV-Vis spectrophotometry and partial least squares. *Analytica Chimica Acta*, 493, 83-94.
- Oestreich-Janzen, S. (2010). *Chemistry of Coffee*, 3.25, Elsevier Ltd., 1085-1113.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, M. B., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133:2812–2819.
- Phan, T.T.D., Kuban, V., Kráčmar, S. (2012). Determination of caffeine contents of coffee brands in the Vietnamese market. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1:995-1002.
- Sánchez-González, I., Jiménez-Escrig, A., & Saura-Calixto, F. (2005). In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (italian, espresso and filter). *Food Chemistry*, 90:133–139.
- Stalmach, A., Mullen, W., Nagai, C., Crozier, A. (2006). On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. *Braz. J. Plant Physiol.*, 18(1): 253-262.
- Supardi. 2012. *Aplikasi Statistika dalam Penelitian*. Jakarta: UFUK Press.
- Vignoli, J.A., Bassoli, D.G., Benassi, M.T., (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124, 863–868.
- Wenjing, L., Sheng, Z., Ling, Y., Yinhu, L., Zhonghua, L., (2011). Simultaneous determination of 6 phenolic acids in coffee beans by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chinese journal of chromatography*, 29, 5, 439-442.
- Yuwono, M. dan Indrayanto, G. (2005). *Validation of Chromatographic Methods of Analysis*. In Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology, Elsevier Inc, 32: 234 – 259.

Isolasi Silikon (Si) Dari Abu Terbang (*Fly Ash*) Batu Bara Dengan Metode Metalotermal

Ainun Nazilah*, Novita Andarini, Tanti Haryati

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

*Email : ainun.zilah@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengisolasi silikon dari fly ash. Silikon diperoleh dengan cara mereduksi silika hasil ekstraksi fly ash dengan metode metalotermal sederhana. Metode metalotermal dilakukan dengan menghomogenkan silika dan magnesium kemudian di furnace pada variasi suhu 650, 750, 850. Silikon yang diperoleh diuji kemurniannya dengan analisis massa jenis, AAS (Atomic Absorption Spectrofotometric), dan FTIR. Hasil analisis menyimpulkan bahwa suhu optimum 650 untuk mendapat silikon dengan jumlah maksimal dari silika p.a. Kadar silikon dari silika p.a adalah 26,7948% dengan massa jenis 2,377g/cm³. Suhu optimum digunakan untuk mereduksi silika hasil ekstraksi dari fly ash. Hasil analisis kadar silikon dari fly ash sebesar 9,1912%.

Kata Kunci: silikon, fly ash, metalotermal, magnesium.

PENDAHULUAN

Fly ash merupakan limbah hasil pembakaran abu terbang batu bara. *Fly ash* adalah salah satu limbah berbahaya maka dari itu perlu adanya pengolahan. Menurut sumber PJB Paiton tahun 2000 *fly ash* mengandung 30,25-36,83% silika. Silika diperoleh dengan mengekstrak *fly ash* menggunakan pelarut yang bersifat basa. Silika ekstrak dari *fly ash* dapat dimanfaatkan sebagai sumber dari silikon.

Silikon merupakan unsur yang memiliki banyak manfaat salah satunya sebagai bahan semikonduktor. Penelitian sintesis silikon dari abu sekam padi telah dilakukan oleh (Swatsitang *et al.*, 2009) menggunakan metode metalotermal dengan aliran gas Ar dan magnesium sebagai agen pereduksi yang menghasilkan silikon polikristalin dengan kemurnian 99,98%. Metalotermal merupakan metode reduksi pada logam oksida menggunakan logam yang memiliki kemampuan mereduksi tinggi. Logam yang biasanya digunakan sebagai reduktor adalah Mg, Al, dan Ca. Metalotermal merupakan perpindahan antara oksida logam terhadap logam pereduksi (Yucel *et al.*, 2014). Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh silikon dengan metode metalotermal sederhana. Metode metalotermal sederhana yakni proses reduksi tanpa melibatkan adanya gas untuk mengusir oksigen.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *fly ash* dari PLTU Paiton-Probolinggo, Kristal NaOH, Akuades, HCl Merck 37%, Magnesium, Silika murni, HNO₃ Merck p.a, HF Merck p.a, H₂SO₄ Merck p.a.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan nikel, *beaker glass* 1000 mL, *beaker glass* 250 mL, *beaker glass* 150 mL, corong, kertas Saring whatman no.41, pH meter, hot plate HP-3000, stirer, oven, *furnace*, gelas ukur 100 mL, desikator, mortar,

batang penumbuk, neraca analitik ohaus, pipet tetes, pengaduk, kaca arloji, labu ukur 1 L, penjepit, piknometer, AAS, FTIR.

Ekstraksi Silika

Penelitian dimulai dengan preparasi *fly ash*. *Fly ash* dilarutkan air panas selama dua jam kemudian didekantasi dan dikeringkan. Hasil preparasi dihaluskan menggunakan mortal. *Fly ash* diambil sebanyak 25 gram dilarutkan dengan 150 mL NaOH 3M selama 120 menit. sampel dipanaskan dengan suhu 65 - 70 dan dilakukan pengadukan selama proses ekstraksi. Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan HCl 1M hingga pH 7. Hasil yang diperoleh didiamkan selama 18 jam. Endapan yang diperoleh dicuci dengan aquades panas kemudian di oven pada suhu 80 selama 6 jam (Retnosari, 2013).

Analisis gravimetri Silika ditimbang 1 gram lalu ditambahkan 5 mL HCl 1:1 (v/v), kemudian diuapkan, selama proses penguapan ditambahkan 15 mL HCl 1:1 (v/v). Hasil penguapan dikeringkan. Ditambahkan 5 mL HCl 1:1 (v/v), dipanaskan dan ditambahkan 50 mL akuades panas. Campuran disaring pada kondisi panas dengan kertas saring ukuran medium no.41. Wadah beserta residu dicuci dengan HCl 1:50 (v/v) panas kemudian dicuci dengan akuades hingga larutan pencuci bersifat netral. Filtrat dan hasil diuapkan dalam oven pada suhu 110 selama 30 menit. Perlakuan dilakukan duplo. Dilakukan penyaringan lalu kertas saring dan residu dikeringkan pada suhu 110 dan dibakar pada suhu 900. Hasil yang diperoleh didinginkan desikator kemudian ditimbang hingga berat konstant. Catat berat wadah dan isinya selanjutnya dilakukan volatilisasi dengan HF, ditambahkan sedikit akuades pada residu, 4 tetes H₂SO₄ 1:1 (v/v) dan 10 mL HF 48%. Campuran tersebut diuapkan. Wadah dibakar untuk mendapatkan berat konstant pada 900. Dicatat berat wadah dan isinya.

Perhitungan kadar SiO₂ dilakukan dengan mengurangi berat wadah berserta isi sebelum dan sesudah ditambahkan HF.

Keterangan :

A : Massa sampel sebelum ditambahkan HF

B : Massa sampel setelah ditambahkan HF

(Greenberg, et al., 1992).

Isolasi Silikon

Proses Metalotermal Sebanyak 2 gram bubuk silika dimasukkan ke dalam cawan nikel. Ditambahkan 1,595 gram bubuk magnesium kemudian dihomogenkan. Campuran dipanaskan pada suhu dengan variasi 650, 750, dan 850 selama 3 jam. Keadaan optimum pada proses diatas digunakan pada silika yang diperoleh dari diekstraksi *fly ash*. Karakterisasi silikon yang diperoleh ditentukan massa jenisnya. Ditimbang massa piknometer kosong beserta tutupnya (m1). Ditimbang massa piknometer penuh air beserta tutupnya (m2). Ditimbang massa piknometer berisi Si beserta tutupnya (m3). Ditimbang massa piknometer berisi Si dan dipenuhi air beserta tutupnya (m4).

Analisis lanjutan dilakukan dengan Analisis kadar silikon dengan AAS dan analisis FTIR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi silika

Ekstraksi silika dari *fly ash* menggunakan NaOH 3M selama 120 menit menghasilkan silika sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil ekstraksi silika dari *fly ash*

No	pH	Waktu (menit)	Berat SiO ₂ (gram)
1	6,9-7	120	1,433
2	6,9-7	120	1,299
3	6,9-7	120	1,301

Hasil yang yang diperoleh merupakan silika kasar yang belum murni. Proses ekstraksi diperkirakan adanya pengotor Al₂O₃ yang mempunyai sifat kelarutan mirip dengan silika sehingga diperlukan adanya analisis kemurnian silika. Gravimetri penguapan dilakukan untuk mengetahui kadar silika yang diperoleh. Kadar silika yang diperoleh sebesar 28,77%.

Isolasi Silikon

Isolasi silikon dilakukan dengan metode metalotermal sederhana. Silika p.a ditambahkan magnesium dengan variasi suhu reduksi 650, 750, dan 850. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:

Table 2. Hasil pengukuran massa jenis silikon

No	Variasi suhu (°C)	Massa jenis (g.cm ⁻³)
1	650	2,377
2	750	2,633
3	850	2,612

Hasil reduksi berupa padatan berwarna coklat kehitaman dan padatan putih. Padatan putih yang terbentuk merupakan bukti bahwa MgO telah terbentuk. Padatan coklat kehitaman merupakan silikon polikristalin. Pencucian hasil dilakukan dengan air dan HCl, dimana MgO dapat larut oleh air dan sisa magnesium akan larut dengan HCl. Hasil Analisis silikon yang direduksi dari silika p.a adalah sebagai berikut: Data di atas menyimpulkan bahwa suhu 650 memiliki nilai yang mendekati massa jenis silikon standar (2,33 g.cm⁻³). Hal ini menyimpulkan bahwa hasil silikon yang diperoleh tidak murni dengan kata lain masih terdapat pengotor.

Karakterisasi lanjutan untuk menentukan suhu optimum dilakukan dengan pengujian FTIR. Analisis FTIR dilakukan untuk mengetahui oksida dalam silika telah direduksi. Hasil yang diperoleh pada suhu 650 puncak ikatan Si-O-Si muncul pada bilangan gelombang 1042,13 cm⁻¹. Puncak yang dihasilkan bukan puncak yang bagus karena tidak kembali pada garis awal pembentukan puncak. Terdapat tiga puncak yang muncul yang terletak dalam satu puncak. Hal ini menandakan bahwa ikatan yang terbentuk sudah melemah dibuktikan dengan hasil vibrasi ikatan yang mengalami pergeseran. Berikut spectra hasil FTIR silikon:

Gambar 1. Gambar spectra IR pada suhu 650, dan 850.

Hasil analisis massa jenis dan FTIR menyimpulkan bahwa suhu optimum reduksi 650 untuk memperoleh silikon dengan jumlah maksimal. Hal ini disebabkan magnesium mulai meleleh pada suhu 650. Magnesium dalam fase padat memiliki bilangan oksidasi 0, sedangkan saat fase cair bilangan oksidasi meningkat menjadi +2. Perubahan bilangan oksidasi ini akan menyebabkan pembentukan magnesium oksida (MgO) sebagai tanda telah terjadi reaksi. Perubahan bilangan oksidasi magnesium ditandai dengan munculnya api saat suhu furnace 650 dimana pada saat yang sama magnesium akan berikatan dengan oksida dalam silika menjadi magnesium oksida. Kadar silikon yang diperoleh dianalisis dengan AAS.

Table 3. Hasil pengukuran silikon hasil reduksi dari silika p.a

No	Variasi suhu (°C)	% Si
1	650	26,7948
2	750	24,7116
3	850	23,5755

Hasil pengukuran AAS kadar silikon yang terbanyak pada suhu 650. Hal ini merupakan kesesuaian dengan pengukuran massa jenis dan FTIR dimana pada suhu 650 kadar yang diperoleh merupakan kadar dari silikon murni dan tidak dipengaruhi dengan sisa silika yang belum tereduksi. Perhitungan secara teori dimana di dalam silika mengandung 46,67% silikon. Hal ini menunjukkan bahwa metode metalotermal sederhana mampu mengisolasi silikon sebesar 57,4 % dari silika p.a.

Suhu optimum digunakan untuk silika hasil ekstraksi *fly ash*. Hasil pengukuran massa jenis dan AAS silikon dari hasil reduksi silika yang diperoleh dari ekstraksi *fly ash* adalah sebagai berikut:

Table 4. Hasil Pengukuran Massa Jenis Silikon dari hasil ekstraksi *fly ash*

No	Pengulangan	Massa jenis (g.cm ⁻³)
1	1	1,811
2	2	1,715
3	3	1,808

Pengukuran hasil massa jenis nilainya jauh berbeda dari massa jenis silikon standart hal ini dikarenakan tingkat kemurnian dari silika yang digunakan relatif kecil. Keberadaan pengotor lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan silika p.a.

Kadar silikon dari *fly ash* diukur menggunakan AAS. Hasil analisis AAS diperoleh kadar silikon sebesar 8,839%. Hasil ini membuktikan bahwa metode metalotermal sederhana dapat digunakan untuk mendapatkan silikon sebesar 32,98%.

Tabel 4. Hasil analisis AAS silikon dari hasil ekstraksi *fly ash*

No	Pengulangan	% Si
1	1	9,0538
2	2	8,2739
3	3	9,1912

KESIMPULAN

Temperatur optimal untuk mereduksi silika dengan menggunakan metode metalotermal sederhana adalah 650. Kadar silikon diperoleh sebesar 26,7948% dari silika p.a dan 8,8396% dari ekstrak *fly ash*. Kualitas yang hasil reduksi yang diperoleh dari silika p.a dan silika hasil ekstrak *fly ash* lebih bagus silika p.a dikarenakan kadar silika yang berasal dari fly ash tingkat kemurniannya rendah yakni 28,77%.

DAFTAR PUSTAKA

- Fatony, M.H.A. 2015. *Ekstraksi Silika Dari Fly Ash Batubara (Studi Pengaruh Variasi Waktu Ekstraksi, Jenis Asam Dan pH)*. [Skripsi]. Jember : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Greenberg, A.E., Clescert, L & Eaton, A. 1992. *Standard Methode For The Examination of Water And Wastewater, 18 Edition*. Washington: American Public Health Association.
- Paiton, PJB. 2002. *Material Safety Data Sheet*. Probolinggo : PT. Pembangkitan Jawa Bali Unit Pembangkitan Paiton.
- Retnosari, A. 2013. *Ekstraksi dan Penentuan Kadar Silika (SiO₂) Hasil Ekstraksi Dari Abu Terbang (Fly Ash) Batubara*. [Skripsi]. Jember : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Swatsitang, E., Krochai, M., 2009. Preparation and Characterization of Silikon from Rice Hulls. *Jurnal sains*, **2 (19)**: 91-94.
- Yucel, O., et al. 2014. *Metalotermik Reduction process*. <http://akademi.itu.edu.tr/alkanmura/DosyaGetir/49412/aluminotermikdeneyfoyu.doc>. [4 Oktober 2014]

Aplikasi Metode Adsa-Overlay Untuk Mengukur Tegangan Permukaan

M. A. Alhadi*, T. Mulyono, D. Indarti

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA; Universitas Jember

*Email : bow_hadi@yahoo.com

ABSTRAK

Banyak metode yang telah dikembangkan untuk mengukur tegangan permukaan dan sudut kontak. Salah satu cara pengukuran tegangan permukaan yang populer saat ini adalah pengukuran dengan berdasarkan profil pendant drop dari cairan yang akan diukur. Axisymmetric Drop Shape Analysis (ADSA) merupakan metode yang didasarkan pada perbandingan bentuk tetes yang didapat dari eksperimen dengan model matematis dari persamaan Laplace klasik. ADSA-Overlay dilakukan dengan cara menumpukan plot persamaan Laplacian pada gambar tetes yang akan diukur. Akurasi dari metode ADSA-Overlay yang dilakukan pada cairan aquades alkohol, dan aseton dengan suhu 25°C adalah sebesar 99,8%, 98,4% dan 92,5% dengan presisi 1,39 mN/m; 0,99 mN/m; dan 0,99 mN/m.

Kata Kunci : ADSA, Overlay, Pendant, Drop

PENDAHULUAN

Metode *Pendant drop* didasarkan pada hubungan perubahan bentuk dari tetesan cairan dengan tegangan permukaannya. Profil dari *pendant drop* bergantung pada kesetimbangan antara gaya gravitasi, yang cenderung memperpanjang profil tetesannya, dan tegangan permukaan yang mengurangi luas permukaan tetesan sehingga profilnya semakin berbentuk bola (Bois *et al*, 1996). Metode ini memiliki beberapa kelebihan, diantaranya hanya membutuhkan bahan yang sangat sedikit, relatif cepat dan mampu digunakan untuk mengukur tegangan permukaan secara dinamis (William *et al*, 1995).

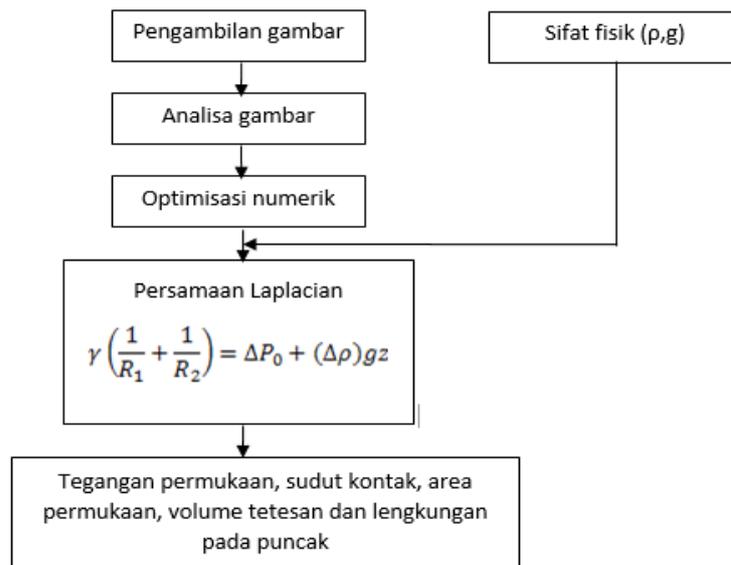
Analisa bentuk tetes pertama kali dilakukan oleh Bashfort dan Adams (1892) yang menghasilkan berbagai bentuk *sessile drop* dari berbagai nilai tegangan permukaan dan jari-jari puncak tetes yang berbeda. Rotenberg *et al* (1983) mengembangkan teknik pengukuran *Axisymmetric Drop Shape Analysis* (ADSA). teknik ini menepatkan (*fitting*) profil tetes yang diukur pada kurva Laplacian menggunakan metode non linear. Umumnya prosedur ADSA ditunjukkan pada Gambar 1.

Pada penelitian ini akan dilakukan pengukuran profil tetes dari cairan yang telah diketahui profilnya. Pengambilan gambar digital menggunakan mikroskop

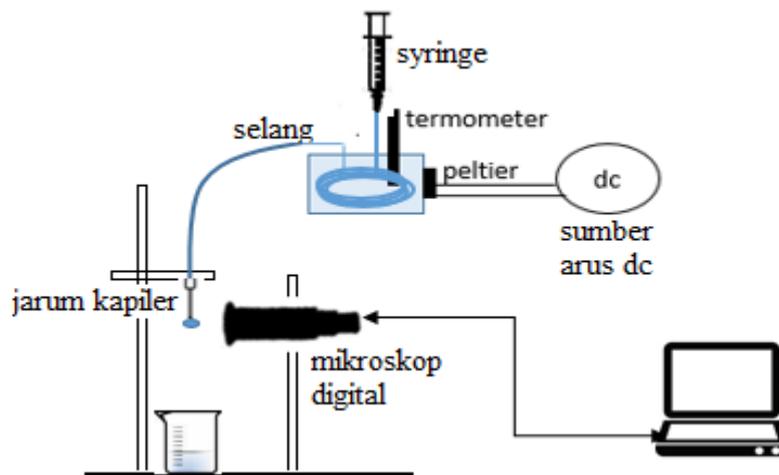
digital yang disambungkan ke komputer personal. Model persamaan laplacian yang digunakan, digambar pada profil tetes sesuai dengan syarat persamaan. Teknik ini disebut ADSA-Overlay karena proses penumpukan plot persamaan Laplacian pada gambar tetes yang akan diukur. Konstanta dan variabel yang ada pada persamaan tersebut diatur sedemikian rupa sehingga plot persamaannya semirip mungkin dengan outline gambar tetes. Hasil dari nilai persamaan Laplace tersebut dibandingkan dengan literatur yang telah ada untuk menentukan validitas metode ini dalam menentukan tegangan permukaan. Parameter validitas metode ADSA-Overlay yang diuji adalah presisi dan akurasi.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, etanol PA dan aseton PA. Set alat ADSA-Overlay disusun sesuai Gambar 2. *Syringe* yang telah dilengkapi dengan perangkat pengatur suhu dipasang pada stand dengan posisi vertikal terhadap meja. *Beaker glass* disiapkan dibawah syringe untuk menampung tetes yang terjatuh. Mikroskop yang telah dipasang sedemikian rupa pada stand lain disambungkan dengan komputer dengan program ADSA-Overlay sehingga gambar tetesan yang didapatkan jelas.



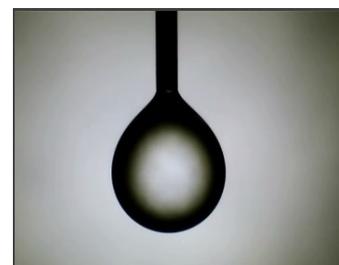
Gambar 1. Prosedur umum dari *Axisymmetric Drop Shape Analysis* (ADSA)



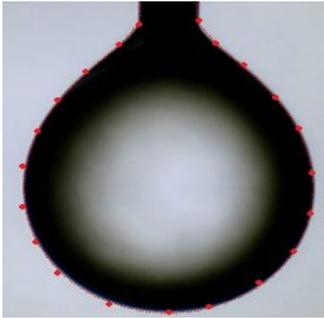
Gambar 2. Set Alat ADSA-Overlay

Air yang telah diatur suhunya sebesar 25°C dialirkan pada perangkat pengatur suhu yang terpasang pada *syringe*. Cairan yang akan ditentukan tegangan permukaannya dimasukkan dalam *syringe*. Cairan diteteskan dari *syringe* dengan cara menekan *syringe* secara perlahan. Tetes yang terbentuk diambil videonya, dari video yang telah diambil, dipilih gambar ketika tetes tepat akan jatuh. Perlakuan diatas diulangi untuk suhu 26 °C, 2 °C, 28 °C, dan 29 °C

Plot persamaan Laplace ditumpukan (*overlaying*) pada gambar yang telah didapat. Plot persamaan Laplace ditentukan variabelnya sehingga plot yang didapat semirip mungkin dengan gambar profil tetes cairan yang didapat. Dari variabel yang digunakan dapat ditentukan tegangan permukaannya (Neumann, 1997)



Gambar 3 Foto *Pendant Drop* Aquades yang didapatkan dari hasil eksperimen



Gambar 4 Fitting Kurva Teoritis gambar 3

HASIL DAN PEMBAHASAN

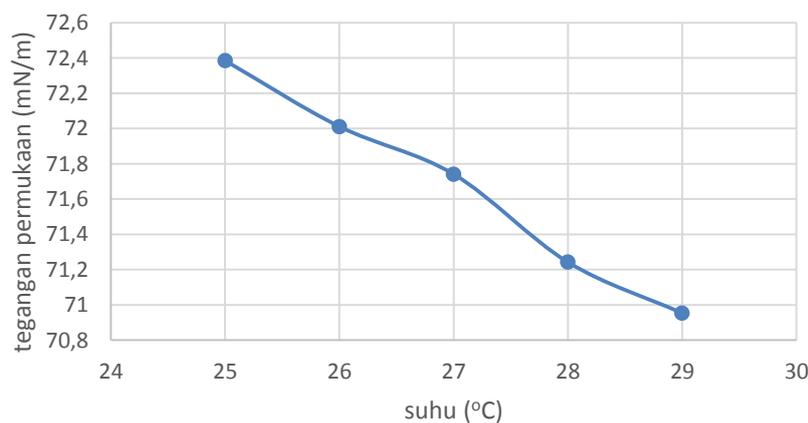
Program ADSA-Overlay yang digunakan dibuat dengan menggunakan program LABVIEW. Program ini mampu menentukan tegangan permukaan cairan yang akan diuji dengan cara menganalisa profil dari *pendant drop* cairan tersebut. Gambar 3 menunjukkan foto *pendant drop* aquades yang didapatkan dari eksperimen. *Fitting* kurva teoritis dilakukan dengan memvariasikan konstanta b dan c sampai kurva teoritis yang dihasilkan cocok dengan profil kurva eksperimen seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.

Akurasi yang dimiliki oleh metode ADSA-Overlay pada pengukuran Aquades adalah sebesar 99,8% dengan presisi 1,39 mN/m. Akurasi yang dimiliki oleh ADSA-Overlay pada pengukuran tegangan permukaan etanol adalah 98,4% dengan presisi 0,99 mN/m. Akurasi yang dimiliki oleh ADSA-Overlay pada pengukuran tegangan permukaan aseton adalah 92,4% dengan presisi yang dimiliki sebesar 1,65 mN/m. Tabel 1 menyatakan hasil perhitungan akurasi dan presisi sampel pada suhu 25°C.

Gaya internal yang mempengaruhi profil *pendant drop* seperti gaya van der Waals, dipol-dipol, dan ikatan hidrogen dipengaruhi oleh suhu. Gaya internal yang terjadi antara partikel dalam larutan akan mengakibatkan gaya tarik menarik dalam larutan. Dengan adanya kenaikan suhu, maka partikel cairan akan mendapatkan energi untuk melepaskan ikatannya dari pengaruh gaya internal. Umumnya semakin besar suhu larutan, maka tegangan permukaannya akan mengecil dan sudut kontak akan semakin kecil. Gambar 5 menunjukkan pengaruh temperatur terhadap tegangan permukaan air.

Tabel 1. Akurasi dan presisi sampel pada suhu 25°C

Nama	(mN/m)	(mN/m)	Akurasi	SD (mN/m)	Presisi (mN/m)
Aquades	72,11	71,99	99,8%	1,00	1,39
Ethanol	22,33	21,97	98,4%	0,22	0,99
Aseton	25,23	23,46	92,4%	0,22	0,99



Gambar 5. Pengaruh suhu terhadap tegangan permukaan air

KESIMPULAN

Akurasi dari metode ADSA-Overlay yang dilakukan pada cairan aquades alkohol, dan aseton dengan suhu 25°C adalah sebesar 99,8%, 98,4% dan 92,5% dengan akurasi masing-masing 1,39 mN/m; 0,99 mN/m; dan 0,99 mN/m. Berdasarkan akurasi dan presisi yang

didapatkan program ADSA-Overlay mampu digunakan untuk menentukan tegangan permukaan yang dicari.

DAFTAR PUSTAKA

Bashford, F., Adams, J. C. 1982. An Attempt To Test The Theory Of Capillary Action. Cambridge.

- David, B. T., Dominic J. C., Clinton, B., William, B. K. 1995. Robust Digital Image Analysis of Pendant Drop Shape. *Journal of Colloid and Interface Science* 177 (2): 658-665.
- Del Rio, O. I., Neumann. A. W., 1997. Computational Methods For The Measurement Of Interfacial Properties From The Shape And Dimensions Of Pendant And Sessile Drops. *J. Colloid Interface Sci*, 196 (2): 136-147.
- Faour, G., Grimaldi, M., Richou, J., dan Bois, A. 1996. Real-Time Pendant Drop Tensiometer Using Image Processing with Interfacial Area and Interfacial Tension Control Capabilities. *Journal of Colloid and Interface Science*, 181 (2): 385-392.
- Rotenberg. Y., Boruvka, L., dan Newmann, A. W. 1983. Determination of Surface Tension and Contact Angle From The Shapes of Axisymmetric Fluid Interfaces. *J Colloid Interface Science*, 93 (1): 169.

Uji Aktivitas Analgesik Asam 2-(3-Klorobenzoiloksi) Benzoat Pada Tikus Wistar Jantan Dengan Metode Plantar Test

Chatryne Putri Sinaga, Beatrice Ivana Go, Ratna Megawati Widharma, Catherina Caroline, Bambang Soekardjo, Wahyu Dewi Tamayanti*

Fakultas Farmasi, Unika Widya Mandala Surabaya
*Email: dewffua@gmail.com

ABSTRAK

Asam 2-(3-klorobenzoiloksi) benzoat disintesis dengan menggunakan asam salisilat dan 3-klorobenzoil klorida. Tikus Wistar jantan digunakan dalam penelitian ini dan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol sehat, kelompok pembanding dengan dosis 12,5; 25; 50; 100; dan 200 mg/kgBB dan kelompok uji dengan dosis 12,5; 25; 50; 100; dan 200 mg/kg BB. Pengamatan waktu respon terhadap nyeri pada t10, t20, t30, t40, t50, t60 dilakukan setelah tikus diinduksi panas melalui alat uji plantar. Perhitungan statistik dengan uji one way anova dilanjutkan dengan HSD. Perhitungan persentase hambatan nyeri pada tiap dosis juga dilakukan dan menunjukkan bahwa senyawa asam 2-(3-klorobenzoiloksi) benzoat pada dosis 200 mg/kgBB menunjukkan persentase hambatan nyeri tertinggi dibandingkan dengan dosis lainnya dan senyawa pembanding. Penelitian ini menyimpulkan bahwa senyawa asam 2-(3-klorobenzoiloksi) benzoat memiliki aktivitas analgesik lebih baik dibandingkan asam asetil salisilat.

Kata Kunci: Analgesik, Plantar Test, Asam Benzoat

PENDAHULUAN

Asam salisilat merupakan obat analgesik non narkotik yang sering digunakan dalam masyarakat. Asam salisilat mempunyai aktivitas analgesik antipiretik dan antirematik tetapi tidak dapat digunakan secara oral karena terlalu toksik. Turunan asam salisilat digunakan untuk mengurangi rasa sakit pada nyeri kepala, sakit otot dan sakit yang berhubungan dengan rematik (Purwanto dan Susilowati, 2000). Untuk meningkatkan aktivitas analgesik dan menurunkan efek samping, dilakukan modifikasi struktur asam salisilat dengan cara mengubah gugus karboksil melalui pembentukan garam, ester atau amida.

Modifikasi struktur dilakukan dengan cara substitusi pada gugus hidroksil, memasukan gugus hidroksil atau gugus yang lain pada cincin aromatik atau mengubah gugus-gugus fungsional (Purwanto dan Susilowati, 2000). Novitasari (2007) telah memodifikasi struktur asam salisilat dengan gugus asam 3-klorobenzoil klorida, menghasilkan asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat (ED_{50} = 20,09 mg/kgBB) yang menunjukkan efek analgesik lebih tinggi terhadap asam asetilsalisilat (ED_{50} = 34,89mg/kgBB) pada mencit. Natalia dkk. (2012) telah melakukan pemodelan interaksi dengan berbagai macam turunan asam salisilat pada siklooksigenase 2 dan diketahui bahwa energi interaksi yang diperoleh untuk asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat (G_{Score} = -7,39) lebih rendah dibandingkan asam salisilat (G_{Score} = -5,88). Semakin kecil nilai G_{Score} , interaksi semakin baik dan stabil. Dalam hal ini asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat cukup potensial untuk menggantikan asam asetilsalisilat. Soekardjo, *et al* (2009) melakukan uji toksisitas akut asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat pada mencit betina dengan menggunakan metode OECD 425.

Diketahui bahwa LD_{50} adalah 1750 mg/kgBB dan selama 14 hari tidak ada satupun mencit yang mati.

Mengingat cukup potensialnya asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat sebagai pengganti asam asetil salisilat maka pada penelitian ini akan dilanjutkan dengan uji aktivitas analgesik pada hewan pengerat lain yaitu tikus putih jantan dengan menggunakan rangsangan panas yaitu dengan metode *plantar test*. Metode *hot plate* ini cocok untuk evaluasi analgesik sentral (Gupta *et al.*, 2003). Pada metode plat panas atau *hot plate technique*, hewan ditempatkan diatas lempeng panas dengan suhu tetap sebagai stimulus nyeri dan hewan akan memberi respon seperti menggaruk atau menjilat kaki depan (Glassman, 1971). Respon tikus terhadap rangsangan *hot plate* adalah melompat, menarik kaki atau menjilat kaki. Suhu yang digunakan dikontrol antara 55-56°C

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

CMC-Na 0.5 %, asam asetilsalisilat, asetosal, asam 2-(3klorobenzoiloksi)benzoat, dan plantar test

Hewan Coba

Hewan coba yang dipakai adalah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) jantan, yang dinyatakan sehat dan belum pernah digunakan untuk percobaan, dengan umur 2 – 3 bulan, berat 150 – 200 g. Hewan coba diambil secara random, dan dipelihara dalam kondisi yang sama, agar dapat beradaptasi dengan kondisi atau perlakuan nutrisi yang sama, diamati kesehatannya dengan cara menimbang berat badan dan pengamatan tingkah lakunya (Mitruka dan Rawnsley, 1976).

Metode Penelitian

Asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat dan sediaan perbandingan asam asetilsalisilat (asetosal) dibuat dalam bentuk suspensi dengan dosis 200 mg/kgBB, 100 mg/kg BB; 50 mg/kg BB; 25 mg/kg BB, dan 12,5 mg/kg BB.

Uji Aktivitas Analgesik

Tikus disonde sesuai dengan pembagian kelompok, baik kelompok uji, kelompok kontrol, dan kelompok perbandingan. Tikus kelompok uji diinjeksi dengan suspensi asam 2-(3-klorobenzoiloksi) benzoat, volume penyuntikan sesuai dengan berat badan tikus dan dosis yang diberikan dibagi menjadi lima kelompok dengan dosis 2,5; 25; 50; 100; dan 200 mg/kgBB. Pemilihan 5 macam dosis berdasarkan penelitian terdahulu yaitu dimana dosis 200mg/kgBB menghasilkan hambatan

nyeri sekitar 60% dan gejala toksisitasnya tampak pada rentang 250-400 mg/kgBB. Maka dari itu ditentukan rentang dosis yang lebih rendah dari dosis toksik tersebut yaitu 12,5; 25; 50; 100; dan 200 mg/kgBB (Diyah dkk., 2002). Tikus putih jantan kelompok kontrol diinjeksi dengan suspensi CMC-Na 0,5 %, dan tikus putih jantan kelompok perbandingan diinjeksi dengan suspensi asam asetilsalisilat sesuai dengan berat badan mencit dan dosis yang diberikan yang dibagi menjadi lima kelompok dengan dosis 12,5; 25; 50; 100; dan 200 mg/kg BB. Setelah disonde, tikus putih jantan didiamkan selama 10 menit. Setelah 10 menit tikus putih jantan kelompok uji, kontrol, maupun perbandingan diletakkan diatas *plantar test* untuk diinduksi nyeri pada t_{10} , t_{20} , t_{30} , t_{40} , t_{50} , t_{60} , kemudian diamati waktu respon tikus terhadap rangsangan nyeri.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Persentase Hambatan Nyeri pada Kelompok yang diberi Senyawa Uji Asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat dan Asam Asetilsalisilat

Dosis (mg/kgBB)	Rata-rata respon time		% Hambatan nyeri	
	Asam Asetilsalisilat	Asam 2-(3-klorobenzoiloksi) benzoat	Asam Asetilsalisilat	Asam 2-(3-klorobenzoiloksi) benzoat
12,5	36,99	34,24	49,15	38,06
25	37,98	35,81	53,14	44,39
50	40,66	36,96	63,95	49,03
100	42,37	39,98	70,84	61,21
200	44,16	42,64	78,06	71,93
Kontrol	24,8		-	

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah diuji dengan *plantar test* diketahui hasil respon time pada tiga kelompok percobaan dan untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antara respon time dari ketiga kelompok tersebut, maka dilakukan uji ANOVA satu arah (oneway ANOVA) pada $\alpha = 0,05$. Dari hasil uji anova didapatkan harga $P < 0,05$ ($P = 0,000$), maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Hal tersebut berarti ada perbedaan bermakna antara respon time tikus kelompok uji, kelompok perbandingan dan kelompok kontrol. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan bermakna, dilakukan uji HSD. Dari hasil uji HSD diketahui bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok senyawa uji dan kelompok senyawa

perbandingan terhadap kelompok kontrol, dan tidak ada perbedaan yang bermakna antara respon time kelompok senyawa uji terhadap kelompok senyawa perbandingan. Untuk memastikan lebih lanjut maka dilakukan perhitungan persentase hambatan nyeri dari kelompok senyawa uji dan kelompok senyawa perbandingan terhadap kelompok kontrol.

Perhitungan Persentase Hambatan Nyeri

Hasil perhitungan persentase hambatan nyeri dapat dilihat pada tabel 1. Cara perhitungan persentase hambatan nyeri masing-masing kelompok senyawa uji dan perbandingan terhadap kelompok kontrol dapat dilihat pada lampiran D.

Setelah diketahui adanya perbedaan bermakna antar respon time maka selanjutnya dilakukan

perhitungan persentase hambatan nyeri tiap dosis dari kelompok senyawa uji dan kelompok senyawa pembanding terhadap kelompok kontrol. Hasil persentase hambatan nyeri menunjukkan bahwa persentase senyawa asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat pada dosis 200 mg/kgBB paling tinggi jika dibandingkan dengan dosis lainnya dan senyawa pembanding

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka disimpulkan bahwa asam 2-(3-klorobenzoiloksi)benzoat menghasilkan aktivitas analgesik pada lebih tinggi dibandingkan asam asetil salisilat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada pemerintah Indonesia yang mendanai penelitian ini melalui penelitian ini melalui Program Hibah Bersaing.

DAFTAR PUSTAKA

- Glassman, J.M., 1971. Agent with Analgesic Activity and Dependence Liability. In: Turner, R.A., & Hebborn, P. (Ed), *Screening Methods in Pharmacology*, vol. II. Academic press, New York, p. 233.
- Gupta, M., Mazumder, U.K., Kumar, R.S. and Kumar, T.S. 2003. *Studies on Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Properties of Methanol Extract of Caesalpinia bonducella leaves in Experimental Animal Models*, Iranian J. Pharmacology & Therapeutics. Calcutta, India: Razi Institute for Drug Research.
- Mishra, D., Ghosh, G., Kumar, S. And Panda, P. K., 2011, An Experimental Study Of Analgesic Activity Of Selective COX-2 Inhibitor With Conventional NSAIDs, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4: 79.
- Mitruka, J and H. M. Rawnsley, 1976, *Animal For Medical Reasearch*, John Wiley and Sons, New York, 273.
- Natalia, O., 2012, *Pemodelan Interaksi Turunan Potensial Asam Benzoil Salisilat Dengan Reseptor Enzim Siklooksigenase-2*, Skripsi Sarjana Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Novitasari, A., 2007. Sintesis Asam 3-klorobenzoil Salisilat dan Penentuan ED₅₀ Analgesik pada Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi Sarjana Farmasi*. Universitas Widya Mandala, Surabaya.
- Purwanto & Susilowati, R., 2000. Hubungan Struktur-Aktivitas Obat Analgetika, In: Siswandono & Soekardjo, B. (Eds.), *Kimia Medisinal 2*. Airlangga University Press, Surabaya, pp. 283, 291-2, 295.
- Soekardjo, B., Irwan Setyabudi dan Caroline, 2009, Sintesis dan Hubungan Kuantitatif Struktur dengan Aktivitas Analgesik terhadap Mencit (*Mus musculus*) dari Turunan Asam Benzoilsalisilat, *Hibah PHK-A2 Research Project*, Unika Widya Mandala, Surabaya.

Sintesis dan Karakterisasi Hidrogel Kopolimer dari Akrilamida dan Metilen Bisakrilamida Pada Kitin Cangkang Udang

Dian Fatmawati, Achmad Sjaifullah*, Agung Budi Santoso

Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember
E-mail: Sjaiful.fmipa@unej.ac.id

ABSTRACT

Limbah udang mengandung protein, mineral, kitin, lemak, dan pigmen sehingga mudah busuk dan mencemari lingkungan. Kitin merupakan biopolimer yang tersusun dari monomer N-asetil-D-Glukosamin yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku sintesis hidrogel. Metode standart isolasi kitin yaitu secara kimiawi. Isolasi kitin secara enzimatik menggunakan enzim protease yang terdapat pada sistem pencernaan udang. Kitin enzimatik dikarakterisasi dan dibandingkan dengan kitin kimiawi. Kadar air, nitrogen total, abu kitin enzimatik sebesar 4,29; 5,77; dan 1,01%, sedangkan kitin kimiawi sebesar 2,97; 5,81; dan 0,87%. Spektra IR keduanya menunjukkan serapan-serapan khas kitin. Kitin enzimatik digunakan sebagai polimer utama sintesis hidrogel kopolimerisasi cangkang akrilamida (Aam) dan ikat silang metilen bisakrilamida (MBA) dengan variasi kitin: Aam 1:2; 1:3; 1:4; 1:5 dengan MBA 0,1;0,15; dan 0,2 g. Hidrogel kitin-Aam-MBA dikarakterisasi %*add-on*, %*swelling*, dan FTIR. Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi monomer, maka semakin tinggi %*add-on*, dan semakin tinggi konsentrasi MBA, maka semakin rendah %*swelling*. Pada FTIR hidrogel terdapat *stretching* C=O amida dengan frekuensi yang rendah pada bilangan gelombang 1666,32 cm⁻¹ menunjukkan amida dari akrilamida. *Bending* amida sekunder muncul pada panjang gelombang 1563,48 cm⁻¹ yang menunjukkan MBA yang mengikat silang rantai kitin-Aam

Kata Kunci: Hidrogel, Kitin, Akrilamida, Ikat silang

PENDAHULUAN

Salah satu sumber daya lokal yang ditekuni menjadi industri budidaya perikanan adalah udang. Peningkatan konsumsi udang akan meningkatkan budidaya dan jumlah limbah cangkang udang yang tidak dapat dikonsumsi. Cangkang udang mengandung protein sekitar 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, kitin 15-20%, dan kandungan lemak serta pigmen yang terikat dengan cangkang (Focher *et al.*, 1992). Kandungan protein, mineral, dan lemak yang tinggi menyebabkan pembusukan pada cangkang udang sesaat setelah dipisahkan dari dagingnya, dan dapat menjadi masalah lingkungan. Maka dilakukan ekstraksi kitin dalam cangkang udang untuk aplikasi komersil lainnya sehingga dapat menambah daya jual.

Kitin adalah senyawa biopolimer berantai panjang dan tidak bercabang. Monomer kitin yaitu N-asetil-D-Glukosamin (Muzzarelli, 1985). Kitin diperoleh dari kulit udang melalui proses ekstraksi yang terdiri dari deproteinasi dan demineralisasi (Steven *et al.*, 1998). Namun pada metode kimia terjadi korosif yang tinggi, depolimerisasi yang disebabkan oleh reagen kimia, peningkatan suhu yang menyebabkan terhidrolisisnya rantai β -glukosida, dan menimbulkan kerusakan lingkungan akibat limbah yang dihasilkan bersifat alkali dan asam (Toan *et al.*, 2006). Untuk mengatasi kelemahan ini, maka dilakukan ekstraksi secara biologis atau enzimatik yang lebih ramah lingkungan.

Kitin banyak dimanfaatkan sebagai hidrogel. Sintesis hidrogel dengan reaksi polimerisasi dan

modifikasinya. *Grafting* monomer yang mengandung gugus hidrofilik ke rantai polimer kitin menjadi metode yang menjanjikan untuk meningkatkan kemampuan penyerapan air (*swelling*) (Tanodekaew *et al.*, 2003). Modifikasi struktur hidrogel yang lain yaitu dengan metode ikat silang (*crosslink*) untuk memperkuat strukturnya.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan pemanfaatan limbah cangkang udang yaitu dengan mengekstraksi kandungan kitinnya. Ekstraksi kitin dilakukan secara enzimatik. Kitin dimodifikasi menjadi hidrogel dengan variasi konsentrasi monomer sehingga diketahui pengaruhnya pada karakteristik hidrogel.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu limbah cangkang udang putih dari pabrik pembekuan udang di Banyuwangi, akrilamida, Metilen bisakrilamida (MBA), K₂S₂O₈, asam sulfat, NaOH, urea, etanol, aseton, HCl 37% (pa), NaOCl 12%, CuSO₄, K₂SO₄, Na₂CO₃, dan H₃BO₃.

Prosedur Kerja

Isolasi Kitin dilakukan secara enzimatik dengan merendam limbah udang (limbah cangkang dan kepala) dalam HCl 1M hingga kadar nitrogen total dalam residu limbah konstan. Campuran dijaga pada kisaran pH 1-2 selama perendaman. Kitin yang dihasilkan dibandingkan dengan kitin isolasi secara kimiawi. Isolasi kimiawi dilakukan dengan 3 tahap yaitu deproteinasi,

demineralisasi, dan depigmentasi. Deproteinasi dilakukan dengan mengaduk limbah kering dalam NaOH 3% 1:10 pada suhu 90°C selama 2 jam, dan demineralisasi dilakukan dengan mengaduk hasil deproteinasi dalam HCl 1,5M 1:10 pada suhu 50°C selama 1 jam (Shahidi, 1991). Kitin dikarakterisasi rendemen, %N total dengan metode kjehldahl, %Abu, dan FTIR.

Kitin hasil isolasi secara enzimatik digunakan untuk sintesis hidrogel melalui teknik polimerisasi radikal bebas. Kitin dilarutkan dalam NaOH 8%/urea 4% sesuai dengan metode Hu *et al.*, (1996). Larutan kitin ditambahkan inisiator kalium persulfat (1% dari total monomer perbandingan terbesar), akrilamida dengan variasi konsentrasi kitin : Aam (1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 b/b), dan Metilen bisakrilamida dengan variasi 0,1; 0,15; dan 0,2 g. Hidrogel dikarakterisasi %*add-on*, *swelling*, dan spektra IR.mol, sodium hidroksida, asam sitrat, sodium hydrogen fosfat, indicator fenolftalien, etanol 96%, .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada perendaman limbah dalam HCl, terjadi proses deproteinasi dan demineralisasi sekaligus. Deproteinasi dilakukan oleh enzim protease yang terdapat pada sistem pencernaan udang. Enzim protease seperti pepsin dan renin dapat aktif pada kondisi asam yaitu pH 1-2. Enzim ini menghidrolisis protein selama perendaman. Proses demineralisasi dilakukan oleh HCl. Mineral akan terhidrolisis oleh asam kuat. Protein dan mineral dalam limbah akan larut dalam HCl. Sampel tidak berbau dan tidak terjadi pembusukan selama perendaman karena bakteri dan enzim yang tidak dapat hidup disuasana asam akan inaktif atau mati. Larutan perendaman sampel berwarna coklat dan lebih kental yang menunjukkan adanya protein dan mineral yang larut.

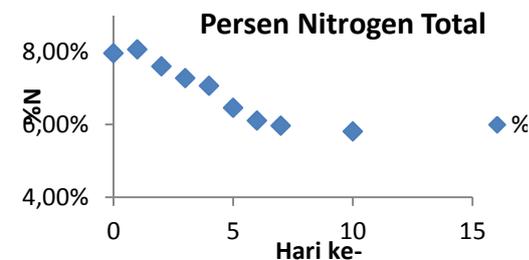
Rendemen kitin dalam limbah udang basah menurut penelitian Mirzani & Aminlari (2007) sebesar 6%. Rata-rata rendemen massa kitin enzimatik 9,72% yang masih lebih tinggi dibandingkan literatur, hal ini karena kitin masih mengandung mineral dan pengotor. Selain itu kadar air dari sampel limbah lebih tinggi dibandingkan literatur, yang menunjukkan bahwa massa limbah awal masih mengandung banyak air dan mempengaruhi rendemen massa kitin.

Kadar nitrogen total isolasi enzimatik selama 10 hari perendaman dihitung untuk mengetahui pengurangan kadar protein dalam sampel. Hasil penentuan persen nitrogen total setiap hari selama 10 hari dari sampel enzimatik dapat dilihat pada gambar 1.

Terjadi penurunan kadar nitrogen yang signifikan pada hari ke-1 hingga hari ke-6, hal ini menunjukkan kerja enzim protease dalam menghidrolisis protein optimal pada hari tersebut. Dan terjadi penurunan kadar nitrogen yang tidak signifikan dari hari ke-6 hingga hari ke-10 karena terjadi penurunan aktifitas dari enzim. Kadar nitrogen sampel

pada hari ke-10 merupakan kadar nitrogen total dari kitin yaitu sebesar 5,77%. Pada penelitian yang dilakukan Mirzani & Aminlari (2007) kadar nitrogen pada kitin juga sekitar 5,87%. Tabel 1 menunjukkan kadar nitrogen total dari limbah udang, kitin enzimatik, dan kitin kimiawi.

Sampel H-0 dan sampel setelah isolasi diuji kadar abu-nya untuk mengetahui hasil demineralisasi.

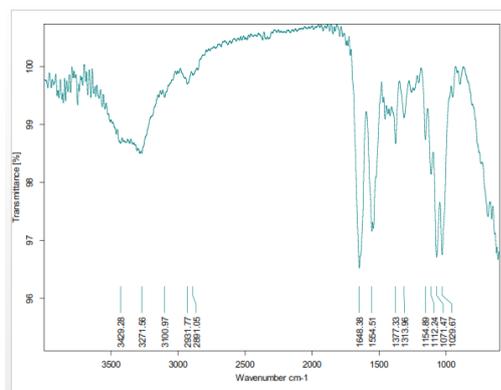


Gambar 1. Persen Nitrogen Total pada Sampel Enzimatis Per Hari

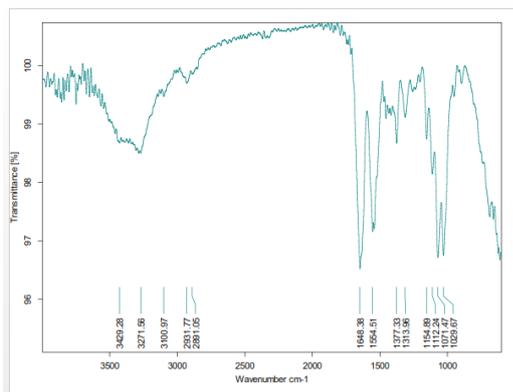
Tabel 1 %N dari Sampel Awal (H-0) dan Kitin

	H-0	Kitin enzimatik	Kitin kimiawi
%N Total	7,96	5,77	5,81

Rata-rata kadar abu H-0 dan kitin hasil isolasi secara kimiawi berturut-turut sebesar 18,94% dan 0,87%. Kadar abu menurun setelah demineralisasi, hal ini menunjukkan bahwa demineralisasi yang dilakukan telah berhasil. Menurut Sini *et al.*, (2007), kadar abu kitin sebesar 0,854±0,04%. Jika dibandingkan, kitin kimiawi yang diperoleh mendekati dengan nilai pada literatur. Kadar abu kitin enzimatik, setelah perendaman dengan HCl berkurang sebanyak hampir 18% dari sampel awal. Rata-rata kandungan mineral kitin hasil isolasi enzimatik yaitu 1,01%. Kadar abu kitin enzimatik lebih tinggi karena proses deminerasinya tanpa penambahan suhu dan ukuran sampel yang didemineralisasi lebih besar, sehingga pemutusan mineral pada cangkang udang kurang efektif.



(a)



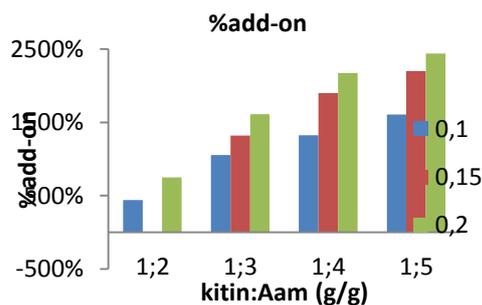
Gambar 2. (a) Spektra IR Kitin Kimiawi ; (b) Spektra IR Kitin Enzimatis

Gambar 2 menunjukkan spektra kitin. Kedua spektra FTIR diatas memiliki kemiripan dan menunjukkan pita serapan khas dari kitin. Sehingga isolasi kitin secara enzimatis dapat dianggap efektif sebagai alternatif isolasi kitin pada limbah udang. Terjadi perbedaan persen transmitan dari kitin kimiawi dan enzimatis pada bilangan gelombang 1623cm^{-1} dan 1648cm^{-1} , hal ini karena konsentrasi gugus C=O asetamida pada kitin enzimatis lebih tinggi dibandingkan kitin kimiawi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh isolasi kitin secara enzimatis lebih murni dan bersih dari campuran.

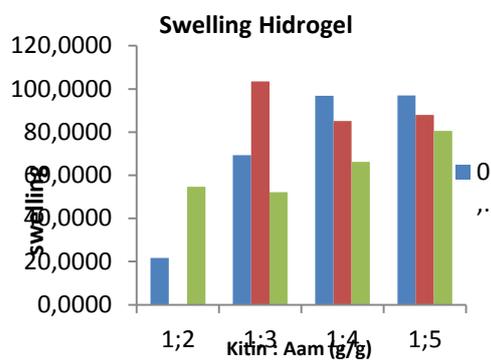
Sintesis Hidrogel

Gambar 3 menunjukkan besarnya %add-on hidrogel Kitin-Aam-MBA. Dan gambar 4 menunjukkan swelling hidrogel.

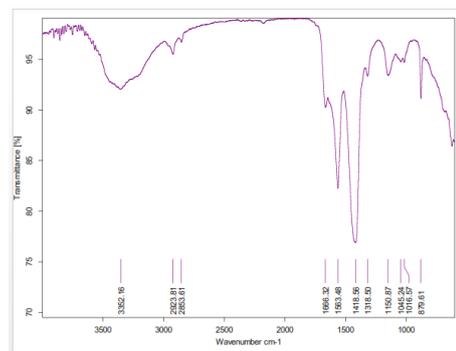
Gambar 3 menunjukkan penambahan monomer pada rantai kitin mengalami kenaikan seiring bertambahnya jumlah Aam dan MBA. Hidrogel dicuci dengan aseton dan air untuk melarutkan homopolimer yang terbentuk selama proses polimerisasi. Pengurangan massa sebelum dan sesudah pencucian sangat sedikit, ini menunjukkan bahwa homopolimer yang terjadi sangat sedikit dan banyaknya monomer yang tercangkok dan terikat silang. Selain homopolimer yang larut, terdapat lapisan tipis sekitar irisan hidrogel yang ikut larut dalam air. Hal ini disebabkan terlalu banyak gugus hidrofil pada polimer yang mengikat air, sehingga lapisan tipis ini lepas dari rantai polimer dan larut dalam air. Pada hidrogel 1:2:0,15 hidrogel yang terbentuk hanya larutan kental, dan larut ketika dicuci sehingga tidak dapat dihitung %add-on.



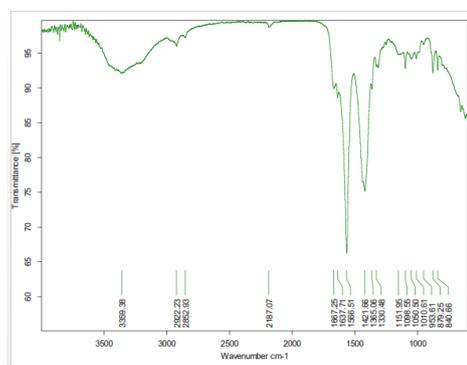
Gambar 3. %add-on



Gambar 4. Swelling



(a)



(b)

Gambar 5. Spektra FTIR Hidrogel (a) 1:5:0,1 & (b) 1:5:0,15

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada hidrogel dengan perbandingan kitin : Aam sebesar 1:4 dan 1:5 dan MBA 0,1; 0,15; 0,2 gram memiliki *trend* semakin banyak MBA, maka kapasitas absorpsi hidrogel semakin rendah. Hal ini menunjukkan semakin banyak rantai kitin-Aam yang terikat silang, maka daya serap airnya menurun. MBA mengikat silang rantai polimer cangkok sehingga jarak antar rantai semakin dekat menyebabkan air yang terjebak diantara rantai semakin sedikit. Hidrogel dengan perbandingan kitin 1:3:0,15 g memiliki absorpsi tertinggi.

Muncul sinyal serapan O-H dan N-H pada bilangan gelombang 3352 cm^{-1} setelah polimerisasi (gambar 5). Intensitas pada peak OH menurun dari $3448,72\text{ cm}^{-1}$ menjadi 3352 cm^{-1} karena overlapping dengan stretching N-H dari akrilamida. Hal ini menunjukkan OH kitin berkurang setelah polimerisasi. *Stretching* C=O amida dengan frekuensi yang rendah pada bilangan gelombang $1666,32\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan amida dari akrilamida. *Bending* amida sekunder muncul pada panjang gelombang $1563,48\text{ cm}^{-1}$, sinyal ini menunjukkan adanya mba yang mengikat silang rantai kitin-aam. Dengan analisis gugus fungsi pada hidrogel dapat diketahui bahwa terjadi polimerisasi cangkok dan ikat silang pada kitin.

KESIMPULAN

Rendemen massa kitin enzimatis sebesar 9,72%, sedangkan menurut literatur rendemen dari berat basah limbah sebesar 6%. Perbedaan ini disebabkan oleh banyaknya air limbah udang yang terambil saat isolasi. Karakteristik kitin enzimatis yaitu kadar N total dan kadar abu berturut-turut 5,77% dan 1,01% sedangkan kitin kimiawi sebesar 5,81% dan 0,87%. Karakteristik kitin enzimatis mendekati kitin kimiawi. Selain itu Spektrum IR kitin enzimatis dan kimiawi menunjukkan kemiripan. Hidrogel dengan swelling paling tinggi pada perbandingan kitin:Aam dan MBA 1:3 0,5 gram yaitu sebesar 103,5370 dan %*Add-on* menunjukkan semakin besar jumlah monomer yang tambahkan semakin tinggi %*Add-on*. Hidrogel dengan penambahan MBA 1,5 gram sangat keras dan mudah pecah.

DAFTAR PUSTAKA

- Focher, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, and Terbojevich, A. 1992. Structural Differences Between Chitin Polimorphs And Their Precipitates Solution Evidance From CP-MAS 13, FT-IR, and FT-Rahman Spectroscopy. *Charbohidrat Polimer* 17 (2).
- Hu, X., Du, Y., Tang, Y., Wang, Q., Feng, T., Yang, J., Kennedy, J. F. 2007. Solubility and property of chitin in NaOH/urea aqueous solution. *Elsivier. Carbohydrate Polymers* 70 : 451–458.
- Mirzani, A.M., and Aminlari, B.M. 2007. *A New Process for Deproteinization of Chitin from Shrimp Head Waste*. Congress of Chemical Engineering : Copen hagen.
- Muzzarelli, R. A. A. 1985. Chitin in the Polysaccharides. *Academic press Inc.* Orlando, San Diego Vol 3 (147).
- Shahidi, F., and Synowiecki, J. 1991. Isolation and Characterization of Nutrient and Value-Added Products from Snow Crab (*Chionoecetes opilio*) and Shrimp (*Pandalus borealis*) Processing Discards. *J. Agrid. Food Chem* 39 : 1527 – 1532.
- Sini, T.K., Santosh, S., dan Mathew, P.T. 2007. Study on The Production of Chitin and Chitosan from Shrimp Shell by Using Bacillus Subtilis Fermentation. *Carbohydrate Research* 342 : 2423-2429.
- Stevens, M. P. *Kimia Polimer*. Terjemahan oleh Iis Sopyan. 2007. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Tanodekaew, S., Prasitsilp, M., Swasdison, S., Thavornnyutikarn, B., Pothsree, T., Pateepasen, R. 2004. Preparation of Acrylic Grafted Chitin for Wound Dressing Application. *Biomaterials*. 25 (2004) : 1453-1460.
- Toan, N. V., Ng-How, C., Aye, K.Y., and Trans, T. S. 2006. Production of High-Quality Chitin and Chitosan from Precondition Shrimp Shells. *J. Chemical technology and Biotechnologi* (81).

Identifikasi Dan Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kunci Pepet (*Kaempferia rotunda* L.)

Dina Trianggaluh Fauziah*, Rina Herowati, Gunawan Pamudji Widodo

Fakultas Farmasi; Universitas Setia Budi; Surakarta

*Email: zva_farmasi@yahoo.com

ABSTRAK

Kunci pepet (*Kaempferia rotunda* L.) merupakan tanaman empon-empon yang diketahui memiliki kandungan minyak atsiri, flavonoid, terpenoid yang dapat berfungsi sebagai obat disentri, obat diare dan pelangsing tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam rimpang kunci pepet. Metode yang digunakan pada pemisahan senyawa yaitu metode maserasi menggunakan pelarut etanol 97% kemudian difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan diklorometan menggunakan corong pisah. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan difusi agar. Identifikasi kualitatif kandungan metabolit sekunder dilakukan dengan kromatografi lapis tipis. Hasil rendemen ekstrak (1,56%), fraksi n-heksan (7,12%), fraksi diklorometan (8,35%) dan fraksi berair (9,79%). Daya hambat pada pengujian antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada ekstrak, fraksi n-heksan, diklorometan dan fraksi berair (2,08 cm, 1,37 cm, 1,47 cm, 1,27 cm), *Staphylococcus aureus* pada ekstrak, fraksi n-heksan, diklorometan dan fraksi berair (2,13 cm, 1,30 cm, 1,30 cm, 1,57 cm), *Candida albicans* pada ekstrak, fraksi n-heksan, diklorometan dan fraksi berair (1,82 cm, 1,27 cm, 1,50 cm, 1,33 cm). Analisa GCMS dari ekstrak, fraksi n-heksan, diklorometan dan fraksi berair diperoleh senyawa asam benzoat (8,97%), heksadekana (28,84% dan 33,50%), benzil benzoat (89,21%, 14,71%, 7,23% dan 19,88%), asam benzoat 2-hidroksi phenilmethyl ester (0,90%), asam heksadekanoat (0,92%, 10,10%, 7,04% dan 11,71%), asam 9,12 oktadekadienoat (9,22%), asam 1,2 benzene dikarboksilat (7,11%), asam 1,2 benzene dikarboksilat bis (2 etilheksil) ester (41,40%), benzil alkohol (12,30%), pentadekana (7,22%), bis (2-etilheksil) ftalat (6,31%), metil ester oktadekanoat (5,43%).

Kata Kunci : kunci pepet, fraksinasi, antibakteri, GCMS.

PENDAHULUAN

Rimpang kunci pepet banyak ditemukan tumbuh di wilayah Jawa, Indonesia, di beberapa bagian Thailand dan India. Seperti tanaman pada umumnya, tanaman ini mengandung minyak atsiri, flavonoid, terpenoid yang dapat digunakan sebagai obat disentri, obat diare dan pelangsing tubuh.

Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai rimpang kunci pepet mengandung *n*-pentadekana, camphene, kamfor dan bornil format (Woerdenbag *et al.*, 2004). Sedangkan menurut hasil penelitian lainnya kunci pepet juga mengandung senyawa terpenoid, glikosida dan polifenol (Tang *et al.*, 2014; Keat, 2006; Sukari *et al.*, 2005a; Sukari *et al.*, 2005b; Pancharoen *et al.*, 1989).

Rimpang jahe-jahean ini, yaitu kunci pepet, sudah lama sering dikonsumsi secara konvensional oleh penduduk sekitar, namun penelitian mendalam mengenai sifat-sifat aktivitas biologisnya belum banyak dilaporkan. Sehingga pada penelitian ini, penulis melakukan maserasi kunci pepet, yang kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan corong pisah. Ekstrak dan fraksi diuji antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Selanjutnya dianalisa kandungan senyawa kimia menggunakan GCMS.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunci pepet, diperoleh dari pegunungan Argopuro Kabupaten Jember. Pemisahan senyawa ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 97%. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksan dan diklorometan.

Identifikasi kualitatif dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi diklorometan dan fraksi berair diidentifikasi berdasarkan noda warna pada plat KLT diantaranya alkaloid (reagen Dragendorf), flavonoid (reagen Sitroborat), tanin (reagen FeCl₃), saponin (reagen Liberman Bourchat), terpenoid (reagen Anisaldehyd asam sulfat).

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta antijamur terhadap *Candida albicans* dengan menggunakan metode difusi agar, dimana aktivitas diukur dari besarnya daerah hambatan pertumbuhan bakteri dalam media padat oleh ekstrak dan ketiga fraksi yang berada dalam kertas cakram. Ekstrak dan fraksi yang paling aktif dianalisa menggunakan GCMS untuk mengetahui komponen senyawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rimpang kunci pepet diekstrak menggunakan metode maserasi pelarut menggunakan etanol. Serbuk rimpang kunci pepet 400 gram yang telah dimaserasi menghasilkan rendemen ekstrak 1,56%, fraksi n-heksan 7,12%, diklorometan 8,35%, dan fraksi berair 9,79%.

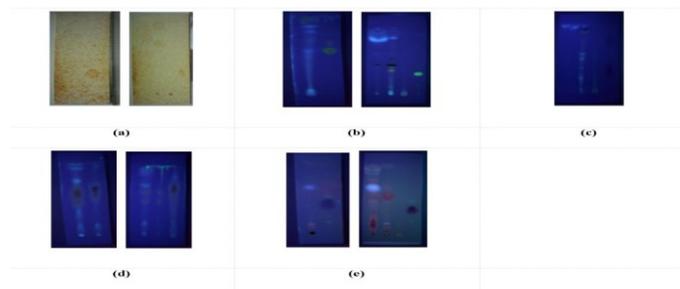
Tiap fraksi dari ekstrak kunci pepet tersebut identifikasi kandungan kimia senyawa metabolit sekundernya. Gambar 1 menunjukkan pola kromatogram KLT dari ekstrak tersebut terhadap reagen pendeteksi golongan kimia senyawa metabolit sekunder. Hasil identifikasi kualitatif ekstrak terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut dapat ditabulasi sesuai tabel 1.

Masing-masing fraksi dari ekstrak kunci pepet selanjutnya diuji aktivitas biologisnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans*. Sesuai gambar 2, Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak dan ketiga fraksi positif memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

Berdasarkan hasil uji aktivitas anti mikroba tersebut, maka daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan mikroba tersebut dapat ditentukan melalui pengukuran zona bening disekitar bahan aktif ekstrak kunci pepet yang dapat ditabulasikan pada tabel 2.

Tabel 1. Hasil identifikasi kandungan kimia

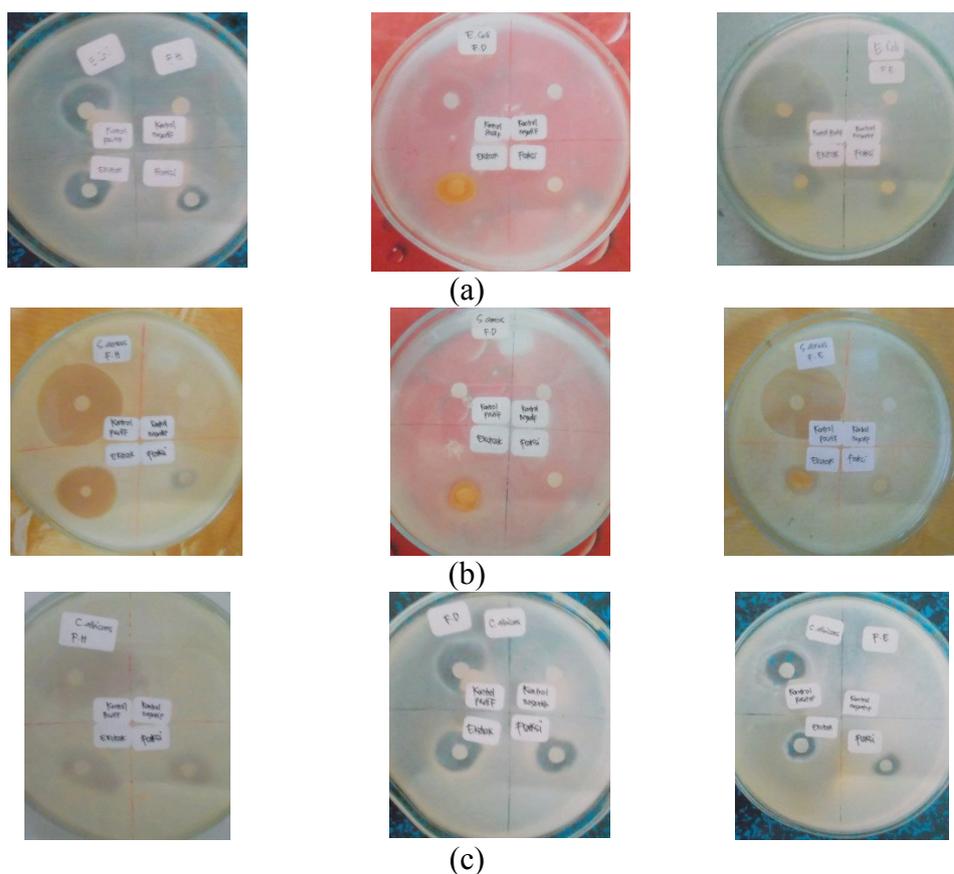
Sampel	Kandungan kimia				
	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin	Terpenoid
Ekstrak	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fraksi n-heksan	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Fraksi diklorometan	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fraksi berair	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)



Gambar 1. Identifikasi kualitatif dengan KLT (a) alkaloid, (b) flavonoid, (c) tanin, (d) saponin, (e) terpenoid

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antimikroba rimpang kunci pepet

Sampel	Daya hambat (cm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Ekstrak	2,08±0,35	2,13±0,44	1,82±0,31
Fraksi n-heksan	1,37±0,21	1,30±0,20	1,27±0,21
Fraksi diklorometan	1,47±0,25	1,30±0,30	1,50±0,30
Fraksi berair	1,27±0,31	1,57±0,31	1,33±0,31



Gambar 2. Uji aktivitas antimikroba (a) *Escherichia coli*, (b) *Staphylococcus aureus*, (c) *Candida albicans*

Selanjutnya ekstrak dan ketiga fraksi aktif dianalisa menggunakan GCMS untuk mengetahui komponen senyawa kimia apa saja yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Table 3 menunjukkan hasil analisis data GCMS terkait nama dan kelimpahan senyawa dalam ekstrak dan masing-masing fraksi.

Masing-masing fraksi dari ekstrak kunci pepet selanjutnya diuji aktivitas biologisnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans*. Sesuai gambar 2, Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak dan ketiga fraksi positif memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

Berdasarkan hasil uji aktivitas anti mikroba tersebut, maka daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan mikroba tersebut dapat ditentukan melalui pengukuran zona bening disekitar bahan aktif ekstrak kunci pepet yang dapat ditabulasikan pada tabel 2.

Selanjutnya ekstrak dan ketiga fraksi aktif dianalisa menggunakan GCMS untuk mengetahui komponen senyawa kimia apa saja yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Table 3 menunjukkan hasil analisis data GCMS terkait nama dan kelimpahan senyawa dalam ekstrak dan masing-masing fraksi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa identifikasi kualitatif dengan KLT pada ekstrak dan ketiga fraksi menunjukkan hasil positif mengandung terpenoid dan saponin. Ekstrak, fraksi heksan, fraksi diklorometan, dan fraksi berair positif menunjukkan daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*. Kandungan senyawa mayor yang muncul dari ekstrak dan ketiga fraksi adalah benzil benzoat dan asam heksadekanoat.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta: Puspa Swara [58-60].
- Madaka, F. and Tewtrakul, S., 2011, Anti-allergic activity of some selected plants in the genus *Boesenbergia* and *Kaempferia*, *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 33 (3): 301-304.
- Pancharoen, O., Tuntiwachwuttikul, P., Taylor, W.C., 1989, Cyclohexane oxide derivatives from *Kaempferia angustifolia* and *Kaempferia* species, *Phytochemistry*, 28(4):1143-1148.

- Sukari, M.A., Neoh, B.K., Rahmani, M., Lajis, M.N., Ee, G.C.L., Yap, A.L.C., 2006, Bioactive constituents from *Kaempferia* species (Zingiberaceae), *Proceedings of the Medicinal Plants, Kuala Lumpur, Malaysia* 5-7 December 2005:275-279.
- Sukari, M.A., Neoh, B.K., Rahmani, M., Khalid, K., Lajis, M.N., Taufiq-Yap, Y.P., Ee, G.C.L., 2008, Essential oils from rhizomes of *Kaempferia angustifolia* Roscoe and *Kaempferia rotunda* L., *Ultra Science and Physical Science*, 20:611-616.
- Tang, S.W., Sukari, M.A., Neoh, B.K., Yeap, Y.S.Y., Abdul, A.B., Kifli, N., Ee, G.C.L., 2014, Phytochemicals from *Kaempferia angustifolia* Rosc. and their cytotoxic and antimicrobial activities, *Biomedical Research International*, 2014, 6 pages.
- Woerdenbag H.J., WindonoT., Bos R., Riswan S., Quax W.J., 2004. Composition of the Essential Oils of *Kaempferia rotunda* L. and *Kaempferia angustifolia* Roscoe Rhizomes from Indonesia. *Flavour and Fragrance Journal* Vol. 19 Issue 2 Pages 145-148 March/April 2004.

Karakteristik Dan Kandungan Eksopolisakarida Dalam Tubuh Buah Jamur Jelly (*Tremella fuciformis*) Kegunaan Sebagai Obat-Review

Djumhawan Ratman Permana* dan Awan Purnawan

Puslit Bioteknologi – LIPI
Email: pdjumhawan@yahoo.com

ABSTRAK

Karakteristik tubuh buah jamur jelly (*Tremella fuciformis*) sebagai jamur pangan (edible mushroom) memiliki kandungan eksopolisakarida memberikan hasil yang optimal dengan sistem fermentasi dalam media kultur terendam. Penelitian mikrobial eksopolisakarida ini telah mendapat perhatian kalangan dunia industri, mengingat aplikasi biopolimer memberikan hasil paling tinggi dengan manfaat sebagai obat kanker/tumor, diabetes, antibiotik, menetralkan racun dan melancarkan sirkulasi darah. Kandungan nutrisi jamur jelly terdiri dari asam lemak, lemak, sterol, fosfolipid, abu dan kalium. Produksi eksopolisakarida memerlukan perhatian secara fisiologis dalam bidang budidaya jamur maupun proses kontrol pada produk akhir. Melalui pertumbuhan miselium jamur jelly dengan media kultur terendam merupakan suatu alternatif produksi metabolit sekunder yang secara efisien memiliki nilai tambah tinggi.

Kata Kunci : Karakteristik eksopolisakarida, jamur jelly (*Tremella fuciformis*)

PENDAHULUAN

Jamur jelly (*Tremella fuciformis*) termasuk kelas *tremellales* dan keluarga *tremellaceae*, merupakan jamur pangan dan juga digunakan dalam pengobatan fisik untuk meningkatkan ketahanan tubuh serta mencegah proses penuaan (Cheung 1996; Gao *et al*, 1996b).

Kegunaan jamur dalam pengobatan tradisional dapat menyembuhkan bermacam-macam infeksi virus, infeksi bakteri, kanker, tumor peradangan dan penyakit condivascular (Benedict & Bradly 1972; Iwalokum *et al*, 2007).

Produksi jamur dunia menghasilkan lebih dari tiga juta ton berasal dari Negara-negara Belanda, Polandia, Irlandia, India dan China (Tanti *et al*, 2011 dalam : Kumar *et al*, 2013). Dijelaskan bahwa China merupakan pengeksport terbesar jamur kalengan dan jamur segar untuk pasar tradisional maupun komersial sebagai bahan pangan dan obat-obatan (Tanti *et al*, 2011 dalam : Kumar *et al*, 2013).

Menurut, Baros *et al*, (2008) bahwa jamur liar mengandung protein lebih tinggi dan lebih rendah karbohidrat dibandingkan jamur komersial sebagaimana ditemukan pada jenis jamur merang liar (*Volvariella volvaceae*) terdapat sejumlah asam amino nonesensial alanin, arginin, asam glutamat, asam aspartat, prolin dan serin.

Struktur kimia polisakarida yang terkandung pada tubuh buah jamur ataupun kultur (*T. fuciformis*) menunjukkan kesamaan rumus bangun dari α -(1 \rightarrow 3)-terikat menyusun rantai cincin D-mannan terikat pada β -D-glukoronat, rantai tunggal pendek dari β -(1 \rightarrow 2) dan sisanya D-xilosa terikat pada posisi C-2 (Kakuata *et al*, 1979 ; Yu *et al*, 1995 ; De Baets & Vandamme, 2001). Seluruh fraksi dan subfraksi polisakarida dari tubuh buah jamur (*T. fuciformis*) ditandai secara fitur kimia

dan biologis (Cho *et al*, 2006 dalam : Ukai *et al*, 1977). Pada waktu belakangan ini struktur bagian asam heteropolisakarida yang diisolasi dari tubuh buah jamur diusulkan menjadi salah satu metoda yang menghasilkan linear (1 \rightarrow 3)- α -rantai-D-mannan ikatan 2 membawa O-kelompok asetil untuk polisakarida terisolasi (Ogawa & Yamamoto, 1985). Menurut, Ogawa & Yamamoto (1985) dikembangkan polisakarida model linear mannoheksosa yang merupakan bagian struktur glikan.

Tujuan penulisan yang berjudul karakteristik dan kandungan eksopolisakarida dalam tubuh buah jamur jelly (*T. fuciformis*) agar lebih fokus dibatasi dengan penjelasan mengenai karakteristik tubuh buah jamur jelly hubungannya dengan kandungan eksopolisakarida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik jamur jelly (*T. fuciformis*)

Dinamakan jamur kuping putih/jamur jelly merupakan salah satu spesies dari kelas heterobasidiomisetes (*jelly fungus*) dengan tubuh buah berbentuk rumbai-rumbai tidak beraturan berwarna putih dan bening menyerupai agar-agar (Anonim, 2015a). Pada habitat alam tubuh buah tumbuh pada permukaan kayu yang sudah lapuk dari pohon berdaun lebar yang sudah mati (Stamet 2000 ; Thomas 2006 dalam : Permana & Purnawan, 2015). Menurut, Thomas (2006) bahwa spesies *tremella* sebagai mikoparasit tidak mendegradasi kayu melainkan memakan jamur lain bernama *Hypoxyylon archeri* yang lebih dahulu merombak media. Menurut, Chen 1998a dalam : Permana & Purnawan (2015) karakteristik jamur jelly tidak mendegradasi selulosa maupun lignin pada kultur campuran dengan *H. archeri*, tetapi bersinergi dimana *T. fuciformis*, akhirnya memanfaatkan kondisinya sebagai jamur parasit.

Pada famili *tremellaceae* sama seperti keluarga *auricularia* memiliki basidium, *hipobasidium* maupun *epibasidium* membelah masing-masing terdiri empat sel, inti diploid calon basidium diikuti penyekatan basidium menjadi dua sel, inti setiap sel membelah dan diikuti penyekatan sel membentuk basidium empat (Thomas, 2006 dalam : Permana & Purnawan, 2015). Yang termasuk kedalam kelas ini umumnya makrokopis (Roger, 2006). Menurut, Roger (2006) menjelaskan miselium yang bersekat dibedakan menjadi miselium primer, sel yang berinti satu berasal dari perkembangan basidiospora, sedangkan miselium sekunder menyusun sel berinti dua hasil konyugasi dua miselium atau bersatunya dua basidiospora. Karakteristik jamur jelly dalam keadaan segar bersifat kenyal (*gelatinous*) sebaliknya dalam keadaan kering akan melengkung menjadi keras (Gunawan, 2000). Fase pertumbuhan pada media alam dimulai terbentuknya primordia yang

berasal dari benang miselium membentuk fase tubuh buah (*fruiting body*) hingga mencapai optimum pada fase puncak membentuk jamur jelly menyerupai bola dengan rumbai-rumbai tidak beraturan Gambar 1.

Formasi tubuh buah pada media *potato dextrose agar* (PDA) membentuk bulatan putih agak kekuning-kuningan setelah dilakukan inokulasi (Permana & Purnawan, 2015).

Sumber pangan menyehatkan

Sudut pandang terhadap jamur sebagai jenis pangan spesial atau makanan yang memberikan kenikmatan cita rasa dan mempunyai nilai gizi tinggi. Berabad-abad bangsa China mempercayai jamur sebagai makanan sehat dan memberi umur panjang, pada kepercayaan yang sama dalam kehidupan dimasa kedinastian di Jepang.



Gambar 1. Karakteristik pertumbuhan jamur jelly (Permana & Purnawan, 2015)

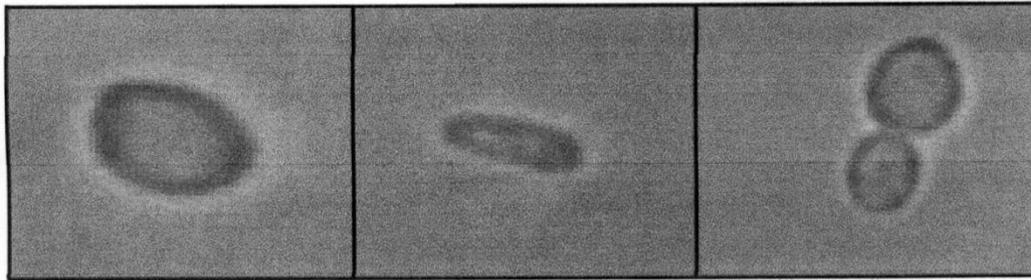


Gambar 2. Tubuh buah jamur jelly terkondisikan pada media *potato dextrose agar* /PDA (Permana & Purnawan, 2015)

Tabel 1. Kinetika fermentasi *T. fuciformis* pada reaktor tank pengocok dan “airlift”

Parameter kinetika	Reaktor tank pengocok	Reaktor “airlift”
Laju pertumbuhan spesifik, μ (d^{-1})	0,19	0,21
Massa sel maksimum, X_{max} (gL^{-1})	0,83	10,40
EPS maksimum, P_{max} (gL^{-1})	2,18	3,05
Laju konsumsi spesifik terhadap substrat, $Q_{s/x}$ ($g\ g^{-1}\ d^{-1}$)	0,40	0,41
Laju produksi spesifik terhadap EPS, $P_{p/x}$ ($g\ g^{-1}\ d^{-1}$)	0,05	0,06
Yield EPS dalam substrat, $Y_{p/s}$ ($g\ g^{-1}$)	0,13	0,15

Sumber : Cho *et al.*, 2006



Gambar 3. Morfologi pertumbuhan sel *T. fuciformis* : (a) bentuk sel oval, (b) bentuk sel lonjong dan (c) bentuk sel ganda (Cho *et al.*, 2006)

Tabel 2. Komposisi kimia EPS dihasilkan dengan sistem fermentasi kultur terendam

Parameter	Komposisi (% b/b)	
	Reaktor tank pengocok	Reaktor airlift
Karbohidrat		
mannosa	56,10 ± 0,41	51,48 ± 0,10
xilosa	21,67 ± 0,06	22,58 ± 0,61
fukosa	19,60 ± 0,22	21,81 ± 0,89
lain-lain	2,63 ± 0,22	4,13 ± 1,16
Asam amino		
alanin	9,28 ± 0,12	7,80 ± 0,22
leusin	7,34 ± 0,80	6,34 ± 0,27
valin	8,46 ± 0,71	10,12 ± 0,99
glisin	8,35 ± 0,03	8,47 ± 0,09
serin	12,14 ± 1,23	13,38 ± 1,20
asam aspartat	8,40 ± 0,52	7,97 ± 0,18
asam glutamat	14,70 ± 1,73	17,42 ± 0,21
sistein	6,35 ± 0,00	4,95 ± 0,48
isoleusin	11,97 ± 0,37	11,26 ± 0,30
methionin	6,87 ± 1,91	6,35 ± 2,06
threonin	6,14 ± 0,06	5,94 ± 0,15

Budidaya jamur jelly secara komersial sangat menguntungkan, hal ini ditunjukkan dengan tingkat produksi jamur jelly dari China pada tahun 1977 diperkirakan mencapai 130 ribu ton (Chang & Miles, 2004 dalam : Permana & Purnawan, 2015). Metoda produksi jamur jelly dilakukan dua cara yang berbeda yaitu berbahan baku kayu gelondongan dengan potongan panjang tertentu sebagai media tumbuhnya dan dengan serbuk gergaji sebagai media tumbuh dalam baglog. Manfaat jamur jelly sebagai pangan untuk bahan dasar minuman, juice dan ice cream. Selain itu digunakan untuk campuran hidangan bubur, sup dan hidangan pencuci mulut (Thomas, 2006 dalam : Permana & Purnawan, 2015)

Kebutuhan jamur jelly terus meningkat sehingga mendorong tingkat produksi menjadi naik serta mendorong perekonomian masyarakat banyak. Dalam sistem budidaya secara komersial memerlukan penerapan manajemen yang meliputi parameter pemonitor diantaranya faktor suhu maupun kelembaban udara untuk menjaga pertumbuhan primordia jamur (Chen, 1998b dalam : Permana &

Purnawan, 2015). Analisis komposisi berbagai varietas jamur menunjukkan bahwa dalam perhitungan berat kering jamur mengandung 19-35% protein terdiri atas semua asam amino utama terutama kaya akan lisin dan leusin yang tidak ditemukan pada sebagian besar bahan pangan serelia.

Kandungan lemak total yang rendah disertai tingginya asam-asam lemak tidak jenuh (72 – 85%) dalam tubuh buah jamur menyebabkan jamur merupakan pangan yang sehat. Dari jamur segar dalam berat kering terkandung karbohidrat 51 – 88 % dan serat 4 – 20 %. Jamur sebagai sumber vitamin mengandung thiamin, riboflavin, niasin, biotin, asam askorbat dan mineral. Kandungan gizinya terdiri dari kadar air, protein, lemak, karbohidrat, serat, abu dan energi 351 k kal. Kandungan lemak sebanyak 72 % sesuai untuk konsumsi, terdapat vitamin B1, B2 dan Vit C, serat 7,4 – 27,6 %. Memiliki nilai gizi per 100 gram jamur adalah 44,8 gram air, 284 k kal energi, 73 gram karbohidrat, 9,25 gram protein, 0,73 gram lemak, 70,1 gram serat dan 2,21 gram ampas (Anonim, 2015b).

Peranan sebagai obat-obatan

Nilai lebih kedua dari manfaat jamur sebagai properti medisinal secara tradisional mencegah perdarahan berbagai penyakit perut dan memelihara kesehatan jaringan paru-paru. Mengurangi penyakit panas dalam dan rasa sakit pada kulit akibat luka bakar. Tubuh buah jamur apabila dipanaskan akan menghasilkan lendir yang berpengaruh menonaktifkan zat racun, racun residu pestisida maupun racun berbentuk logam berat. Kandungan senyawa dalam lendir tersebut efektif menghambat pertumbuhan *karsinoma* dan *sarkoma* (sel kanker) hingga 80-90% serta berfungsi sebagai zat anti koagulan (mencegah atau menghambat penggumpalan darah) untuk mengobati penyakit darah tinggi (hipertensi), pengerasan pembuluh darah, kekurangan darah (anemia), mengobati penyakit wasir dan memperlancar buang air besar. Jamur jelly berperan sebagai aditif dalam campuran pakan ternak babi di Korea. Menghasilkan suatu bioaktif anti mikroba, meningkatkan kekebalan dan menurunkan kadar lemak darah (Wang *et al*, 1998). Bahkan direkomendasikan sebagai probiotik secara nyata membuktikan bahwa serum tikus dalam percobaan pengaruh spora *T. fuciformis* dalam polisakarida menurunkan tingkat total kolesterol bahkan membebaskannya dari trigliserida (Shen & Chen, 1989).

Produksi eksopolisakarida

Aplikasi mikrobial eksopolisakarida (EPS) skala industri menghasilkan nilai biopolimer tinggi (Looijestijn *et al*, 1999 ; Levander & Radstrom, 2001 dalam : Cho *et al*, 2006). Produksi eksopolisakarida dihasilkan dengan proses fermentasi menggunakan sistem kultur terendam. Peneliti Korea ini melakukan percobaan pada bioreaktor sistem “airlift” serta pada tabung percobaan selanjutnya diidentifikasi secara morfologis tentang efektifitas produksi eksopolisakarida (Cho *et al*, 2006). Strain *T. fuciformis* diperoleh dari distrik pegunungan di wilayah Korea selanjutnya diisolasi dan diidentifikasi menggunakan ITS-5.8 rDNA Analisis Sequencing dimana data homologi mencatat hasilnya 99%. Pemeliharaan stok kultur murni dilakukan dalam *potato dextrose agar* (PDA) agar miring serta subkultur disimpan selama 1 bulan. Sementara agar miring diinkubasi pada suhu 25°C selama 7 hari untuk disimpan pada kondisi 4°C.

Salah satu bagian proses fermentasi terhadap medium menggunakan bioreaktor 5L adalah hasil inokulasi dengan 2% kultur (v/v) melalui pengadukan dilengkapi pH elektroda dan oksigen. Kondisi fermentasi menunjukkan performa pada suhu 28°C laju aerasi 2 vvm kecepatan pengocokan 200 rpm dengan pH 8 serta pada volume kerja fermentor 3L, sebagai fermentasi pembandingan dilakukan juga pada reaktor “airlift” 5L.

Bagian yang menarik pada rangkaian penelitian ini adalah hasil fermentasi dalam reaktor 5L “airlift” dibandingkan dengan kondisi operasi sistem reaktor pengaduk, pengocokan secara fisik menyebabkan

pengaruh terhadap morfologi sel maupun formasi produk. Sangat berbeda dengan “airlift reactor” tidak membutuhkan agitasi karena pengocokan sistem “airlift reactor” berpengaruh dan sedikit dipertimbangkan (Grima *et al*, 1997 ; Kahara *et al*, 2002 dalam ; Cho *et al*, 2006). Hal tersebut sangat beralasan bahwa sistem reaktor “airlift” menghasilkan berat kering sel secara maksimum dan konsentrasi eksopolisakarida lebih tinggi dan paling baik. Menurut, Cho *et al* (2006) mengemukakan seluruh parameter kinetika pada reaktor “airlift” termasuk spesifik produktivitas dan koefisien *yield* terhadap massa sel dan eksopolisakarida tercapai lebih tinggi daripada reaktor sistem tank pengocok (Tabel 1). Hasil ini diharapkan bahwa performa bioreaktor sangat berperan besar terhadap karakter morfologi sel melalui pengaruh pengocokan yang sering dilakukan banyak peneliti (Metz Kossen, 1977 ; Paul *et al*, 1999 dalam : Cho *et al*, 2006).

Morfologi *T. fuciformis* dan karakteristik EPS

Banyak peneliti mempertelakan jamur jelly secara representatif sebagai *dimorphic fungi* yang mengkaji tentang korelasi antara produksi EPS dan morfologi (Yamashi *et al*, 1993 ; Reesleve & Jensen, 1995 ; Reesleve *et al*, 1996 dalam : Cho *et al*, 2006). Dalam pengamatannya secara morfologi *T. fuciformis* sebagai *dimorphic fungi* dengan karakter pertumbuhan menyerupai khamir pada setiap kondisi kultur, Gambar 3 memperjelas klasifikasi pertumbuhan sel selama fermentasi produksi EPS.

Selama fermentasi berlangsung terjadi 3 bentuk morfologi sel yaitu oval, lonjong dan ganda dijelaskan bahwa morfologi selama periode fermentasi dari dua tipe reaktor menunjukkan bentuk khamir yang oval serta persentase bentuk khamir ganda menurun pada fase eksponensial. Tampak nyata ratio bentuk khamir lonjong meningkat pada waktu fase eksponensial. Hal ini memungkinkan bentuk khamir lonjong memberi kontribusi terhadap proses peningkatan produksi EPS. Dengan *SEC Couple MALLS sistem* melakukan determinasi masa molekul eksopolisakarida. Alat sistem *SEC/MALLS* sangat berguna untuk menentukan kandungan berat molekul EPS tanpa melakukan prosedur utama fraksinasi bentuk senyawa polimerik. Hasil EPS pada tank pengocok maupun *airlift reactor* menghasilkan berat molekul relatif tinggi masing-masing yaitu $1,3 \times 10^6$ dan $1,5 \times 10^6$, hasil ini sama seperti yang diisolasi dari polisakarida tubuh buah *T. aurantia* diperoleh berat molekul $1,5 \times 10^6$ (Kiho *et al*, 1995 dalam : Cho *et al*, 2006). Tentang karakteristik molekul ekstraseluler polisakarida dengan sistem kultur terendam *T. fuciformis* pada bagian ini sengaja oleh peneliti yang bersangkutan belum dilaporkan.

Analisis terhadap EPS dari bioreaktor tank pengocok dan *airlift reactor* pada proteoglikan mengandung 86,48 - 89,12% karbohidrat dan 10,88 - 13,52% protein. Secara rinci komposisi karbohidrat dan asam amino diilustrasikan pada Tabel 2. Bahwa EPS mengandung 11 asam amino, terutama 11,26 - 11,97%

isoleusin, 14,70 – 17,42% asam glutamat dan 12,14 – 13,38% serin. Sedangkan dalam bentuk 3 monosakarida yaitu mannososa, xilosa dan fukosa.

KESIMPULAN

Studi sistem kultur terendam untuk kondisi pertumbuhan miselium maupun produksi eksopolisakarida (EPS) dari *T. fuciformis* hasilnya sangat baik. Produksi EPS pada sistem *airlift reactor* lebih tinggi dibandingkan dengan reaktor tank pengocok. Oleh karena itu secara morfologis hasil ini signifikan terhadap produksi ESP, dimana tingkat populasi sel khamir bentuk lonjong sangat berkorelasi dengan peningkatan produksi EPS. Meskipun demikian pengetahuan tentang fisiologi pertumbuhan *T. fuciformis* pada sistem kultur terendam masih dirasakan sangat terbatas.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2015a (<http://wikipedia.jamurkupingputih>)
- Anonim. 2015b (<http://wikipeida.bahasa-Indonesia.ensiklopediabebas>)
- Benedict RG, LR Bradly. 1972. Antimicrobial activity of mushrooms metabolites. *J Pharm Sci* 61 : 1820-1822.
- Chang, Shu-Ting, Miles Philip G. 2004. *Tremella*, increased production by a mixed culture technique, Mushrooms cultivation, Nitritional value, medicinal effect and environmental impact (2nd ed), Boca Raton, Florida CRC Press. ISBN 0-8493-1043-1, dalam : Permana, DR & A. Purnawan, 2015. Karakteristik Jamur Jelly (*Tremella fuciformis*, Berk) sebagai jamur pangan (edible mushroom), Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam Berkelanjutan, Surakarta 8 Agustus 2015, Kampus Gedung Ungu FKIP-Biologi UNS Surakarta (belum diterbitkan)
- Cheung, P.C.K., 1996. The hypercholesterolemic effect of two edible mushrooms: *Auricularia auricular* (tree-ear) and *Tremella fuciformis* (white jelly-leaf) in hypercholesterolemic rats. *Nutr. Res.* 16, 1721-1725.
- De Baets, S., Vandamme, E.J., 2001. Extracellular *Tremella polysaccharides*: structure, properties and applications. *Biotechnol. Lett.* 23, 1361-1366.
- Eun J. Cho, Jung Yo, HY Chang, JW Yan. 2006. Production of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of mushroom *Thremella fuciformis*, *journal of biotechnology*, Available online at www.scince direct.com 127; 129-240.
- Gao, Q., Seljejid, R., Chen, H., Jiang, R., 1996b. Characterisation of acidic heteroglycans from *Tremella fuciformis* Berk with cytokine stimulating activity. *Carbohydr. Res.* 288, 135-142.
- Gunawan, AW. 2000. Usaha pembibitan jamur, Jakarta : Penebar Swadaya, hal. 3-19.
- Grima, E.M., Chisti, Y., Moo-Young, M., 1997. Characterization of shear rates in airlift bioreactor for animal cell culture. *J. Biotechnol.* 54, 195-210.
- Iwalokum BA, Usen UA, Otunba AA, Olukoya DK. 2007. Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *Afr J Biotech* 6: 1732-1739.
- Kahara, P, Kobayashi K, Iwata T Hiraki J, Kojima M, Okabe, M., 2002. Production of ϵ -polylysine in an airlift bioreactor (ABR). *J. Biosci. Bioeng.* 93, 274-280.
- Kakuta, M., Sone, Y., Umeda, T., Misaki, A., 1979. Comparative structural studies in acidic heteropolysaccharides isolated from 'Shirokikurage', fruit body of *Tremella fuciformis* Berk, and the growing culture of its yeast-like cells. *Agric. Biol. Chem.* 43, 1659 – 1668.
- Levander, F., Radstrom, P., 2001. Requirement for phosphoglucomutase in exopolysaccharide biosynthesis in glucose- and lactose utilizing *Streptococcus thermophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2734-2738.
- Kiho, T., Miromoto, H., Sakushima, M., Usui, S., Ukai, S., 1995. Polysaccharides in fungi. XXXV. Anti diabetic activity of an acidic polysaccharide from the fruiting bodies of *Tremella aurantia*. *Biol. Pharm. Bull.* 18, 1627-1629.
- Kumar R, Ashwani L, Shailesh P, RK Borah, D Borah dan J Borgohain. 2013, *Biocience*, vol.5 No. 1, pp 1-7. ISSN : 2078-3948 E-ISSN:2087-3956.
- Looijstenijn PJ, Boels I C, Kleerebezem M, Hugenholtz J, 1999. Regulation of exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* by the sugar source. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 5003-5008.
- Metz, B., Kossen, N.W.F., 1977. Biotechnology review: the growth of molds in the form of pellets: a literature review. *Biotechnol. Bioeng.* 19, 781-799.
- Ogawa T, and H. Yamamoto. 1985. Synthesis of a Model Linear Mannoheptaose for the Backbone Structure of Fruit Body Polysaccharide of *Tremella fuciformis* and *Dictyophora Indusiata* FISCH. *Agric. Biol. Chem.* 49 (2), 475 – 482.
- Paul GC, Priede MA, Thomas CR. 1999. Relationship between morphology and citri acid production in submerged *Aspergillus niger* fermentations. *Biochem. Eng. J.* 3, 121-129.
- Philips Roger. 2006. Mushroom. Pub. McMilan. Hal. 317. <http://www.thefreedictionary.com> /Auricularia + auricular [13 Mei 2009]
- Reeslev M, Jensen B. 1995. Influence of Zn²⁺ and Fe³⁺ on polysaccharide production and mycelium/yeast dimorphism of *Aureobasidium pullulans* in batch cultivation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42, 910-915.
- Reeslev M, Jorgensen BB, Jorgensen, OB, 1996. Exopolysaccharid production and morphology of

- Aureobasidium pullulans* grown in continuous cultivation with varying ammonium-glucose ratio in the growth medium. *J. Biotechnol.* 51, 131-135.
- Shen J, Chen QH, 1989. Antilipemic effect of polysaccharides from *Auricularia auricular*, *Tremella fuciformis* and *Tremella fuciformis* spores (in Chinese). *J. China Pharmaceutical Univ.* 20, 344-347.
- Stamet, Paul. 2000. "chapter 21 : Growth Parameters for Gourmet and medicinal mushroom species"
- Growing gourmet and medicinal, Berkeley, California USA : Ten Speed Press, PP. 402-406 (ISBN 1978-5808-175-7 dalam : Permana, DR & A. Purnawan, 2015. Karakteristik Jamur Jelly (*Tremella fuciformis*, Berk) sebagai jamur pangan (*edible mushroom*), Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam Berkelanjutan, Surakarta 8 Agustus 2015, Kampus Gedung Ungu FKIP-Biologi UNS Surakarta (belum diterbitkan).

Variasi Konsentrasi Larutan Dan pH Larutan Sodium Dodesil Sulfat Terhadap Proses Pemisahan Pada Membran Selulosa Asetat

Dwi Indarti*, Elis Nur Farida, Ika Oktavianawati

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Jember

*E-mail: indarti.fmipa@unej.ac.id

ABSTRACT

Variasi konsentrasi dan pH larutan surfaktan anionik sodium dodesil sulfat (SDS) berpengaruh terhadap pemisahannya menggunakan membran selulosa asetat. Preparasi membran selulosa asetat dilakukan dengan metode inversi fasa. Membran selulosa asetat yang disiapkan dengan konsentrasi polimer sebesar 21,58%. Konsentrasi SDS yang digunakan di bawah konsentrasi kritis miselnya (0,001-0,003M) dan variasi pHnya 3-6. Hasil pengukuran KKM pada pH 3, 4, 5, 6 adalah sebagai berikut: 0,00398 M; 0,00469 M; 0,00571 M; 0,00669 M. Hasil uji kinerja membran tertinggi adalah konsentrasi SDS 0,001 M dan pH 3 dengan nilai meliputi fluks, koefisien rejeksi dan massa teradsorb berturut-turut adalah 0,855 (L/m²jam); 0,003 M pH 6 99,646 %; 0,0408 g.

Kata kunci: sodium dodesil sulfat, konsentrasi kritis misel, membran selulosa asetat, pH

PENDAHULUAN

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh perkembangan teknologi membran pemisah saat ini yang telah meluas di berbagai kalangan, baik kalangan akademis maupun industri. Dibandingkan dengan proses-proses pemisahan yang lain, teknologi membran mempunyai beberapa keunggulan, antara lain dalam hal penggunaan energi, simplisitas dan ramah lingkungan. Keberhasilan proses pemisahan dengan membran tergantung pada kualitas membran tersebut. Salah satu material membran ultrafiltrasi yang berkembang saat ini adalah membran selulosa asetat. Kelebihan selulosa asetat sebagai material membran adalah mudah untuk diproduksi dan bahan mentahnya merupakan sumber yang dapat diperbaharui. Kekurangan membran selulosa asetat adalah sangat sensitive terhadap pH antara 2 sampai 8, biodegradable, yaitu sangat rentan terhadap mikroba yang ada di alam (Wenten, I. G. 2000), hanya cocok dengan beberapa plastisizer (Mark, H et al. 1968).

Teknik-teknik yang digunakan pada proses pembuatan membran antara lain *sintering*, *stretching*, *track-etching*, *template-leaching* dan inversi fasa. Proses pembuatan membran filtrasi umumnya menggunakan metoda inversi fasa, perubahan bentuk polimer dari fasa cair menjadi fasa padatan. Dibanding dengan teknik yang lain inversi fasa mempunyai kelebihan diantaranya mudah dilakukan, pembentukan pori dapat dikendalikan dan dapat digunakan pada berbagai macam polimer (Wenten, I. G. 2000).

Permeabilitas membran selulosa asetat terhadap pemisahan SDS (*Sodium Dodesyl Sulphate*) di bawah KKM (0,00002; 0,00005; 0,00035; 0,00104; 0,00208 M) menghasilkan fouling lebih kecil dan memburuk dengan peningkatan konsentrasi SDS, sehingga selulosa asetat ini dapat digunakan untuk pemisahan surfaktan anionik dengan baik pada konsentrasi di bawah KKM

(*Konsentrasi Kritis Misel*) (Majewska, Katarzyna. 2005).

Fluks SDS dengan konsentrasi di bawah KKM pada pH asam untuk membran selulosa asetat konsentrasi 0,002M; 0,004M; 0,006M; 0,008M berturut-turut sebesar 4,304 L/m².Jam, 4,026 L/m².Jam, 4,318 L/m².Jam dan fluks SDS dengan konsentrasi diatas KKM sebesar 3,762 L/m².Jam, 3,781 L/m².Jam, 3,920 L/m².Jam (Lutfiyah, H. 2010).

Perubahan pH juga mempengaruhi molekul-molekul surfaktan, di mana pada pH rendah (di bawah 4), KKM larutan SDS juga menurun dan relatif konstan pada pH tinggi (Rahman A. & Brown, C.W. 1982). Berdasarkan uraian ini dapat disimpulkan bahwa variasi pH larutan SDS juga berpengaruh terhadap nilai KKM. Pada pH asam nilai KKM dicapai pada konsentrasi yang lebih rendah daripada pH basa dan netral. Semakin rendah nilai KKM yang diperoleh maka semakin mudah misel terbentuk. Misel yang terdapat pada larutan SDS lebih banyak sehingga konsentrasi retentat akan lebih besar dibandingkan pada pH basa dan netral, dimana nilai KKM pada pH asam adalah 0,0047±0,000014M, pada pH netral 0,0081±0,000230M, pH basa 0,0087±0,000094M (Lutfiyah, H. 2010). Konsentrasi dan pH asam larutan SDS sangat mempengaruhi kinerja membran selulosa asetat.

METODE

Alat dan Bahan

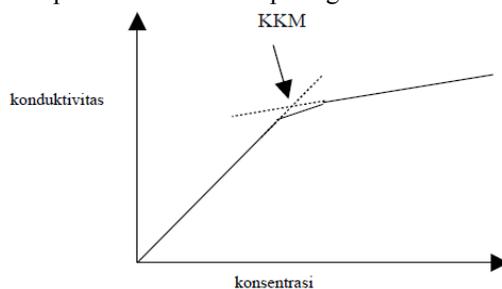
Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : peralatan glass, aluminium foil, kertas saring, neraca analitis, mikrometer, botol semprot, pengaduk magnetik, alat pencetak membran (pelat kaca dan lampu TL), selotip, bak koagulasi, stopwatch, satu set alat ultrafiltrasi modul flat sistem *dead-end*, kompresor, spektrofotometer UV/Vis, pH meter dan konduktometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: selulosa asetat merk Sigma Aldrich (30.000 Da), dimetil ftalat/DMP (merk Schuchardt; $M = 194,19$ g/mol; $\rho = 1,179$ g/mL, pa), aseton (merk Bratako; $\rho = 0,79$ g/mL, pa), dimetil sulfoksida (DMSO) (merk Schuchardt; $M = 78,13$ g/mol; $\rho = 1,11$ g/mL), aquades, dekstran (100-200 kDa) merk Sigma Aldrich, fenol 5% dan H_2SO_4 pekat merk Schuchardt, sodium dodesil sulfat merk Schuchardt OHG, asam sitrat, Na_2HPO_4 .

Prosedur Penelitian

Penelitian ini diawali dengan penyiapan larutan buffer pH 3, 4, 5, 6 dengan penyiapan campuran asam sitrat (1,94 g) dan dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) (5,36 g). Kemudian Pembuatan Larutan SDS 0,1 M dengan variasi konsentrasi pH asam. Larutan induk SDS 0,1 M asam dibuat dengan melarutkan 2,883 g SDS dalam 100 mL larutan buffer pH (3-6). Larutan SDS dengan variasi konsentrasi SDS yang dibuat dari 0,001M-0,012M.

Selanjutnya penentuan nilai KKM dari larutan SDS berbagai variasi konsentrasi didasarkan pada konduktivitas larutan surfaktan menggunakan metode konduktometri. Konduktivitas yang terukur dibuat grafik hubungan antara konsentrasi larutan surfaktan terhadap konduktivitas larutan. Titik belok grafik merupakan nilai KKM seperti gambar 1.



Gambar 1. Grafik penentuan nilai KKM

Tahap selanjutnya adalah preparasi membran selulosa asetat. Pembuatan membran selulosa asetat ini menggunakan metode inversi fasa. Selulosa asetat dengan berat 2,74 gram dilarutkan dalam 2,3 mL aseton dan 6,8 mL. Kemudian ditambahkan dimetil ftalat sebanyak 0,5 mL dan diaduk dengan pengaduk magnet sampai larutan terbentuk, kemudian didiamkan sampai tidak mengandung gelembung udara. larutan dituang di atas permukaan pelat kaca yang telah dilapisi selotif di bagian tepi, kemudian ditekan secara merata di seluruh bagian permukaan kaca menggunakan lampu TL hingga terbentuk film. Selanjutnya film dimasukkan dalam bak koagulasi selama beberapa saat agar terjadi solidifikasi. Bak koagulasi berisi air yang merupakan non pelarut

dari membran. Hasil solidifikasi berupa membran berwarna putih. Membran dicuci dengan air untuk menghilangkan sisa pelarut dan aditif pada membran.

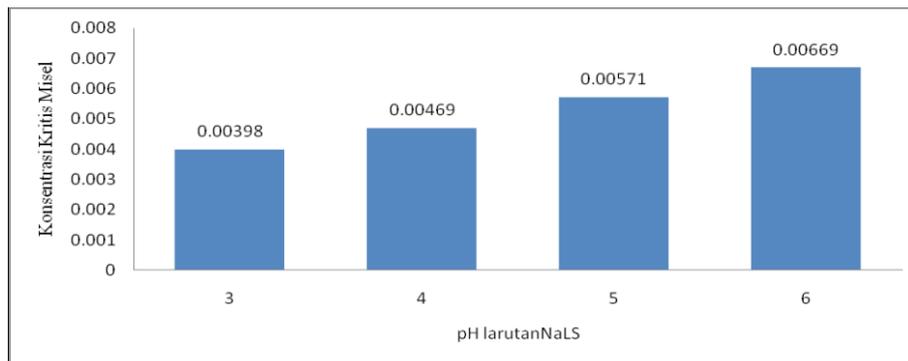
Tahap selanjutnya untuk uji kinerja membran diawali dengan uji fluks air dengan cara membran yang diperoleh kemudian dipotong berbentuk lingkaran sesuai alat ultrafiltrasi. Penentuan fluks air diperoleh dengan mengukur banyaknya volume air yang melewati tiap satuan luas permukaan per satuan waktu. Sebelum uji fluks air, terlebih dahulu dilakukan kompaksi terhadap membran yang akan diuji. Kompaksi dilakukan dengan mengalirkan air melewati membran hingga diperoleh fluks air yang konstan. Ketiga adalah uji koefisien permeabilitas dengan cara mencari fluks dengan berbagai variasi tekanan 1.10^5 - 3.10^5 Pa. Keempat uji rejeksi, menggunakan larutan dekstran 100-200 kDa 1000ppm. Sampel ditambahkan reagen fenol 5% dan H_2SO_4 . Selanjutnya uji kinerja fluks dan rejeksi terhadap larutan SDS sebagai larutan umpan dengan cara yang sama seperti pada uji dekstran, untuk mengetahui konsentrasi permeat dan retentat dimasukkan dalam kurva kalibrasi larutan standart SDS dibawah KKM pada pH (3,4,5,6).

HASIL DAN PEMBAHASAN

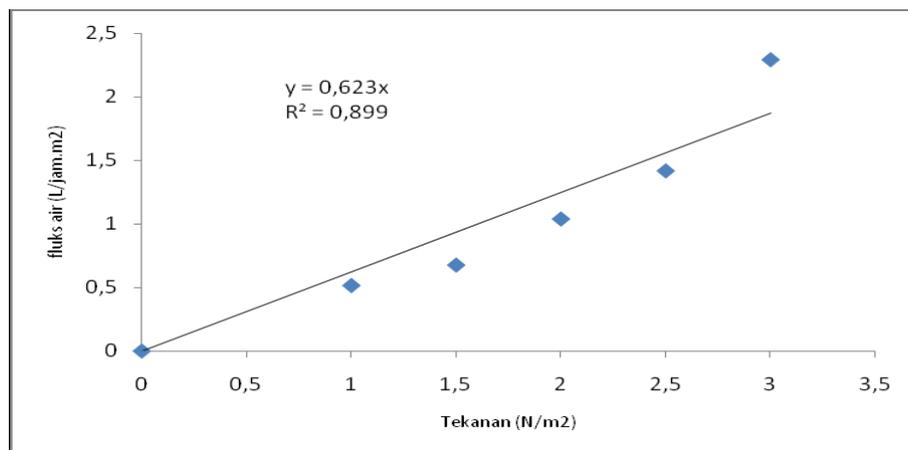
Penentuan Konsentrasi Kritis Misel *Natrium Lauril Sulfat*

Penentuan Konsentrasi Kritis Misel (KKM) bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan surfaktan SDS dari pada pH asam (3, 4, 5, 6) dibawah KKM pada pemisahan SDS membran selulosa asetat. Hal ini karena kinerja membran yang disebabkan oleh surfaktan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi SDS yang dikondisikan pada berbagai pH asam.

Peningkatan konsentrasi SDS menyebabkan kenaikan konduktivitas tetapi pada keadaan setelah titik belok yang merupakan titik KKM mulai terbentuk misel SDS, dan kenaikan konduktivitasnya tidak terlalu signifikan. Hal ini disebabkan penambahan konsentrasi SDS ke dalam larutan di bawah KKM akan meningkatkan jumlah pembawa muatan $Na^+(aq)$ dan $C_{12}H_{25}O_3SO^-(aq)$ yang mengakibatkan konduktivitasnya meningkat. Penambahan konsentrasi SDS akan meningkatkan konsentrasi misel, di mana monomer tetap konstan. Ukuran misel yang lebih besar daripada monomer SDS akan mempengaruhi pergerakan ion dalam larutan lebih lambat sehingga konduktivitasnya tidak naik secara signifikan.



Gambar 2. Hubungan pH larutan SDS terhadap KKM



Gambar 3. Koefisien Permeabilitas Membran Selulosa Asetat

Gambar 2 menunjukkan bahwa pembentukan misel dipengaruhi oleh pH larutan SDS. Molekul SDS yang terionisasi menjadi Na^+ (aq) dan $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{SO}^-$ (aq) dalam air akan dipengaruhi oleh banyaknya ion H^+ pada kondisi yang lebih asam. Ion H^+ akan mengubah gugus $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{SO}^-$ (aq) menjadi $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{SOH}$ yang bermuatan netral. Hal ini mengakibatkan terbentuknya misel pada pH yang lebih asam pada konsentrasi SDS yang lebih rendah. Sebaliknya pada pH yang lebih besar, interaksi ion H^+ berkurang dan lebihnya ion OH^- mengakibatkan gaya tolak antar molekul SDS muatan sejenis dari gugus $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{SO}^-$ (aq) sehingga nilai KKM yang diperoleh lebih besar.

Uji Kinerja Membran Selulosa Asetat

Ada dua parameter utama yang menentukan kinerja membran, yaitu laju aliran (fluks) dan selektifitas membran (R). Secara umum, fluks akan menentukan banyaknya permeat yang dapat dihasilkan (kuantitas), sedangkan selektivitas yang dinyatakan dengan nilai rejeksi berkaitan dengan kemampuan (kualitas) suatu membran untuk menahan molekul zat terlarut. Tahap pertama yang dilakukan untuk mengetahui kinerja membran adalah menentukan waktu kompaksi membran yang akan diuji. Tujuan dari kompaksi adalah untuk memperoleh nilai fluks air yang konstan. Selain

penentuan waktu kompaksi juga ditentukan koefisien permeabilitas membran dengan cara pengaluran tekanan terhadap fluks. Gradien dari kurva tersebut merupakan koefisien permeabilitas (L_p) (gambar 3)

Parameter yang kedua adalah selektifitas membran yang diukur dengan koefisien rejeksi membran. Zat terlarut yang digunakan pada uji rejeksi ini adalah larutan dekstran dengan berat molekul 100-200 kDa dengan konsentrasi 1000 ppm, yang menghasilkan nilai rejeksi 91,93 %. Membran selulosa asetat ini masuk dalam kategori membran ultrafiltrasi sehingga dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya yaitu uji pemisahan larutan SDS pada konsentrasi di bawah Nilai KKM dengan kondisi pH asam (3,4,5,6).

Kinerja Membran Selulosa Asetat pada Pemisahan Natrium Lauril Sulfat (SDS)

Nilai Fluks SDS berubah seiring perubahan konsentrasi dan pH asam larutan yang lebih tinggi. Nilai fluks dengan konsentrasi dan pH SDS lebih rendah menghasilkan nilai fluks yang lebih tinggi daripada konsentrasi dan pH asam SDS yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan pada saat konsentrasi SDS lebih rendah, Jumlah molekul SDS di dalam larutan monomer SDS sedikit dibanding pada konsentrasi SDS yang lebih tinggi. Monomer yang lebih sedikit ini akan melapisi

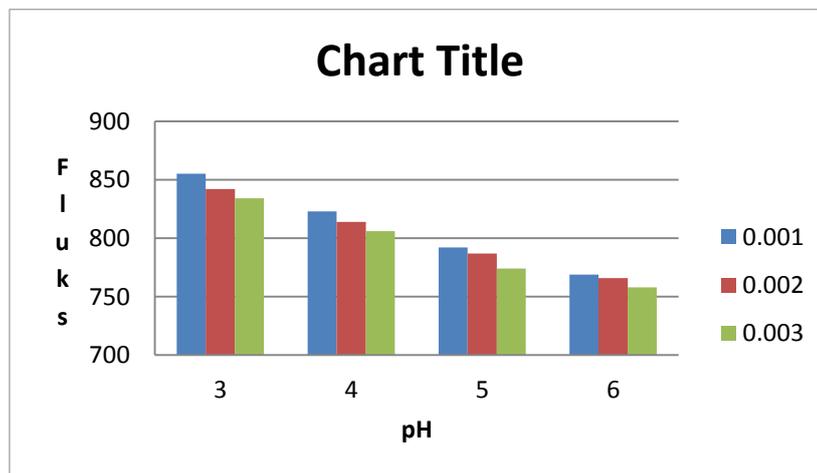
permukaan membran sedangkan molekul air akan lebih mudah melewati pori-pori membran, sehingga fluks konsentrasi SDS yang lebih rendah memiliki nilai fluks SDS lebih tinggi. Pada pH yang lebih asam, banyaknya ion H^+ pada larutan akan menempati permukaan membran, hal ini menyebabkan adsorpsi SDS pada permukaan membran berkurang sehingga molekul air dapat dengan mudah melewati pori-pori membran yang menghasilkan fluks lebih tinggi dibanding pH yang lebih besar.

Gambar 4. menunjukkan bahwa semakin rendah pH dan konsentrasi larutan SDS fluks yang dihasilkan semakin besar, didapat nilai fluks tertinggi pada pH 3 konsentrasi SDS 0,001 M yaitu 0,855 ($L/m^2.Jam$); pada pH 4 konsentrasi SDS 0,001 M yaitu 0,823 ($L/m^2.Jam$); pada pH 5 konsentrasi SDS 0,001 M yaitu 0,792 ($L/m^2.Jam$); pada pH 6 konsentrasi SDS 0,001 M yaitu 0,769 ($L/m^2.Jam$)

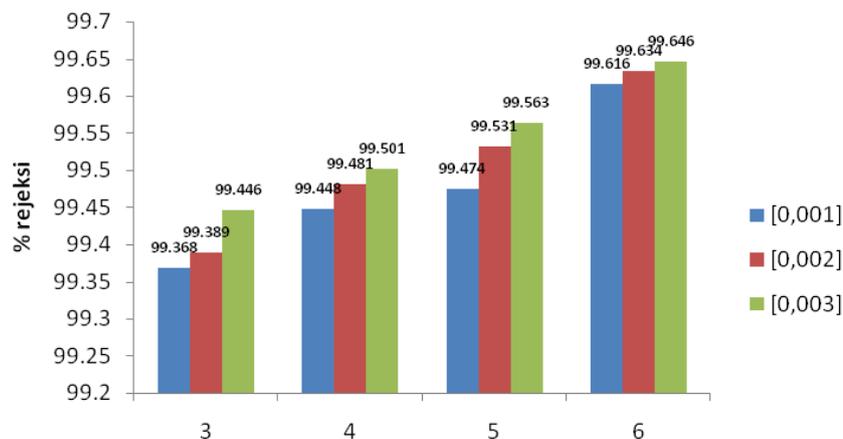
Besarnya koefisien rejeksi suatu membran akan menunjukkan selektifitas membran tersebut dalam

menyaring larutan SDS. Pada konsentrasi SDS lebih rendah, jumlah molekul SDS lebih sedikit dibanding jumlah molekul SDS pada konsentrasi lebih tinggi yang mendekati terjadinya misel. Pada konsentrasi lebih rendah karena jumlah molekul SDS sedikit, maka larutan SDS akan lebih mudah untuk melewati pori membran sehingga molekul SDS yang tertahan/ yang berada dalam retentat kecil. Hal ini mengakibatkan koefisien rejeksi membran akan semakin kecil, berkebalikan dengan fluks dimana pada konsentrasi SDS yang lebih tinggi %R yang dihasilkan membran lebih besar dibandingkan pada konsentrasi SDS yang lebih rendah.

Gambar 5. Menunjukkan bahwa semakin besar pH dan konsentrasi larutan SDS, rejeksi yang dihasilkan semakin besar, didapat nilai rejeksi SDS tertinggi pada pemisahan SDS pH 3-0,003M sebesar 99,446% ; SDS pH 4-0,003M 99,501% ; SDS pH 5-0,003M sebesar 99,563% ; SDS pH 6-0,003M sebesar 99,646%.



Gambar 4. Perbandingan fluks SDS pada pH asam 3-6



Gambar 5. Perbandingan % rejeksi larutan SDS pada pH 3-6

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa variasi pH dan konsentrasi larutan umpan SDS sangat berpengaruh terhadap pemisahan dengan membran Ultrafiltrasi selulosa asetat, yaitu Semakin rendah pH larutan SDS nilai KKM yang didapat semakin kecil. Semakin rendah pH dan konsentrasi larutan SDS di bawah KKM akan menghasilkan fluks yang lebih tinggi dibanding konsentrasi larutan SDS yang lebih besar, dan berbanding terbalik dengan nilai rejeksi, di mana semakin tinggi pH dan konsentrasi larutan SDS rejeksi yang didapat semakin tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Lutfiyah, H. 2010. *Pengaruh Konsentrasi dan pH Larutan Sodium Dodesil Sulfat terhadap Uji*

Pemisahanya Menggunakan Membran Ultrafiltrasi. Tidak diterbitkan. Skripsi. Jember. UNEJ.

Majewska, Katarzyna. 2005. Ultrafiltration of Sodium Dodecyl Sulphate Solutions Using Polymeric Membranes. *Desalination*, Vol. 184: 415-422.

Mark, Herman F., John J. Mc ketta and Donald F. Othmer. 1968. Kirk dan Othmer: *Encyclopa of Chemical Tehnology*. Second Edition. Vol 4. New York: Interscience Publisher a Devision of John Wiley & Son, Inc. p 632 and 657.

Rahman A. and Brown, C.W. 1982. *Effect Of pH on The Critical Micelle Concentration of Sodium Dodecyl Sulphate*. (<http://www.interscience.wiley.com>).

Wenten, I. G. 2000. *Teknologi Membran Industrial*. Bandung: Penerbit ITB.

Alat Pengawet Ikan dan Kerang Berbasis Nano N-Doped TiO₂ Sebagai Solusi Makanan Laut yang Aman Bagi Masyarakat Indonesia

Emas Agus Prastyo Wibowo¹⁾, Heru Setiawan²⁾

¹⁾Mahasiswa; Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Negeri Semarang

²⁾Mahasiswa; Jurusan Biologi ; Fakultas MIPA ; Universitas Negeri Semarang
Email : emasagus@ymail.com

ABSTRACT

Organisme laut seperti ikan dan kerang di Indonesia sudah banyak tercemar, pencemaran ini diakibatkan logam berat berbahaya seperti Pb, Hg, Cd, Cu dan Zn yang bersifat toksik, untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan adanya solusi untuk mengurangi logam berat berbahaya sekaligus mengawetkan makanan laut tersebut melalui metode sederhana yaitu menggunakan fotokatalis. Fotokatalis N-doped TiO₂. Hasil SEM menunjukkan morfologi yang baik dan mengandung C sebesar 13.75 %, N sebesar 54.76 % dan TiO₂ sebesar 31.48 %. Hasil analisis logam Pb menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom yakni ikan tanpa perlakuan sebesar 0,22895 µg/kg, didinginkan 0,2258 µg/kg sedangkan dengan metode ini 0,1196 µg/kg. Alat ini dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi nelayan sebagai instrument pengawetan ikan dan kerang sehingga masyarakat Indonesia dapat menikmati makanan laut tersebut dengan lebih aman.

Kata Kunci : Alat Pengawet dan Pereduksi Logam Berat, Fotokatalis, N-doped TiO₂

PENDAHULUAN

Ikan dan kerang merupakan bahan pangan yang cukup digemari oleh masyarakat Indonesia. Ikan dan kerang sangat baik dikonsumsi karena memenuhi kebutuhan gizi dan mengandung senyawa penting seperti asam amino esensial, asam lemak jenuh, omega 3 (Vikosa, pentanoat) dan DHA (Dokosa Heksa Enoat) (Lloyd, 1992). Tetapi dalam pemanfaatannya ikan dan kerang memiliki kelemahan yaitu sifatnya yang mudah busuk setelah ditangkap (Nurhadi, 2011) dan memiliki kandungan logam berat berbahaya seperti Pb, Hg, Cd, Cu, Cr dan Zn yang cukup tinggi (Sutarto, 2007). Maka untuk menyelesaikan masalah tersebut diperlukan adanya inovasi sistem pengawetan yang sekaligus dapat mereduksi logam berat berbahaya sehingga kedua masalah pada ikan dan kerang tersebut dapat teratasi. Pengawetan ikan dan kerang selama ini dilakukan dengan beberapa metode yaitu pembekuan dengan freezer atau kulkas, pengasapan, pengasinan dan penambahan bahan pengawet (Nurhadi, 2011). Kelemahan berbagai sistem pengawetan tersebut harus dapat diatasi dengan suatu inovasi teknologi hemat energi yang membuat ikan dan kerang terhindar dari proses pembusukan serta mereduksi logam berat berbahaya pada ikan dan kerang tanpa merubah rasa, tekstur dan gizi dari makanan tersebut (Winarno, 2004).

Nanoteknologi di dunia saat ini berkembang begitu pesat. Salah satu contohnya adalah nanomaterial TiO₂. Titanium dioksida merupakan zat fotokatalis berharga ekonomis (Burgess, 2007). Prinsip kerja fotokatalis TiO₂ adalah ketika titanium dioksida berukuran nano terkena sinar UV, maka akan membentuk senyawa super oksida yang dapat

mengoksidasi berbagai senyawa organik sehingga menjadi karbon dioksida (CO₂) dan air (H₂O) (Samal et al, 2010). Sifat TiO₂ yang dapat mengoksidasi senyawa organik seperti bakteri (antibakteri) serta harganya yang ekonomis menjadikan nano (1 nm- 100 nm) TiO₂ sebagai material yang cocok dalam pembuatan alat pengawet dan pereduksi logam berat berbahaya pada ikan dan kerang.

Berdasarkan pemanfaatannya sebagai alat pengawet dan pereduksi logam berat berbahaya pada ikan dan kerang fotokatalis TiO₂ memiliki beberapa kelemahan yaitu hanya bisa diinisiasi dengan sinar UV (Liu et al, 2011), padahal cahaya UV dapat merusak kandungan protein pada ikan dan kerang sehingga perlu dilakukan modifikasi terhadap material tersebut agar bekerja pada rentang cahaya tampak. Salah satu solusi dari masalah ini adalah melapisi TiO₂ dengan Nitrogen (Rani et al, 2010). Pelapisan TiO₂ dengan gas nitrogen akan menaikkan aktivitas pendekomposisi senyawa organik hingga panjang gelombang 550 nm (Ashahi et al, 2001) atau dapat dikatakan N-doped TiO₂ sebagai fotokatalis cahaya tampak. Dengan modifikasi tersebut maka aktivitas TiO₂ sebagai fotokatalis sebagai antibakteri dan mereduksi logam berat menjadi lebih efektif.

Bakteri dan logam berat berbahaya merupakan senyawa yang dapat direduksi oleh fotokatalis n-doped TiO₂. N-doped TiO₂ dapat mereduksi bakteri hingga 98,7% dengan menggunakan cahaya tampak (Wang, 2011). Selain itu fotokatalis dengan N-doped TiO₂ dapat mereduksi logam berat berbahaya seperti Cr(VI) hingga 80% (Slamet, 2003). Dari data tersebut dapat diambil kesimpulan apabila n-doped TiO₂ dilapiskan pada kaca maka N-doped TiO₂ tersebut

dapat memberikan efek antibakteri yang mengakibatkan ikan dan kerang terhindar dari proses pembusukan serta mengurangi logam berat berbahaya pada ikan dan kerang sehingga ikan dan kerang akan lebih aman dikonsumsi.

Berdasarkan fakta diatas maka salah satu inovasi yang akan menjadi solusi pemecahan masalah terhadap sistem pengawetan dan logam berat berbahaya pada ikan dan kerang adalah dengan membuat alat pengawet dan pereduksi logam berat berbahaya pada ikan dan kerang dengan N-doped TiO_2 . Alat tersebut berfungsi mengawetkan ikan dan kerang dengan adanya aktivitas antibakteri yang tinggi serta dapat mereduksi logam berat berbahaya pada ikan dan kerang.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, neraca analitik Metter Toledo, oven GCA Corp, furnace, magnetic stirrer, Cahaya tampak dari Cahaya Matahari, SEM (Scanning Electron Microscopy), Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). Bahan yang digunakan adalah Titanium (IV) isopropoxide Sigma Aldrich, HNO_3 , etanol, urea, dan aquades.

Metode Sintesis $TiO_2 - N$ dan uji aktivitas fotokatalis

Sintesis nanosol TiO_2 menggunakan metode sol-gel dengan perbandingan mol $H_2O : Ti$ yakni 4:1 yang merupakan rasio hidrolisis dalam sintesis ini yaitu 30 ml etanol kemudian ditambahkan HNO_3 sampai pH 3. Selanjutnya larutan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama ± 10 menit agar HNO_3 yang ditambahkan terdistribusi secara merata ke dalam larutan. Selanjutnya ditambahkan 3,98 gram TTIP dengan cara meletakkan erlenmeyer berisi larutan dan magnetic bar ke atas timbangan digital dengan skala 0 dan meneteskan TTIP pelan-pelan sampai timbangan menunjukkan angka 3,98 gram. Lalu 5 ml etanol dalam gelas kimia diletakkan di timbangan digital dan ditambahkan 1,008 gram aquades. Lalu meneteskan etanol di gelas kimia tetes demi tetes sampai habis dan sembari diaduk selama ± 5 jam agar menjadi nanosol. Langkah kedua yakni melarutkan larutan urea 5 % ke dalam campuran nanosol titania tersebut dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 5 jam. Setelah itu, sol yang didapat dilapiskan terhadap substrat kaca. Uji aktivitas fotokatalis yakni sampel berupa ikan di tempatkan dibawah substrat kaca yang sudah terlapis $TiO_2 - N$ selama 2 jam.

Metode Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel ikan (insang, hati dan isi perut) yang diambil pada penjual ikan segar di daerah Sekaran, Gunung Pati Semarang.

Perlakuan Sampel

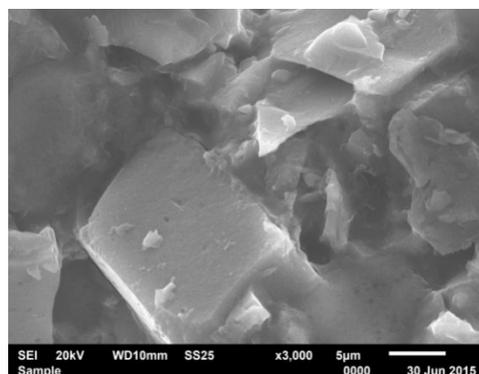
Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 60 C selama 24 jam dan didinginkan di dalam desikator, kemudian sampel di- timbang sebanyak 2 g yang dimasukkan dalam wadah tertutup, selanjutnya di tambahkan 5 ml HNO_3 pekat ditutup dan dibiarkan selama 24 jam. Selanjutnya larutan yang diperoleh dipanaskan di atas penangas air pada suhu 60–70°C selama 2 - 3 jam (sampai larutan jernih). Didinginkan pada suhu ruangan dan ditambahkan 1 mL HNO_3 pekat dan diaduk pelan-pelan, kemudian ditambahkan 9 mL aquades. Sampel siap diukur dengan AAS menggunakan nyala udara-asetilen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

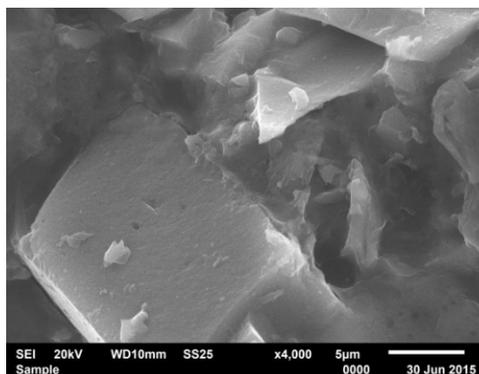
Berdasarkan hasil SEM (Scanning Electron Microscopy) dapat disimpulkan bahwa:

- Pada perbesaran SEM 300x terlihat bahwa material terlapis secara bagus dan merata.
- Pada perbesaran SEM 400x terlihat bahwa nanopartikel TiO_2 berbentuk Kristal bulat, terlapis secara kuat, dan sangat rapat.
- Pada perbesaran SEM 500x menunjukkan bahwa material terlapis dengan ukuran hampir sama yaitu rata-rata 40 nm dalam nanopartikel N- doped TiO_2 .

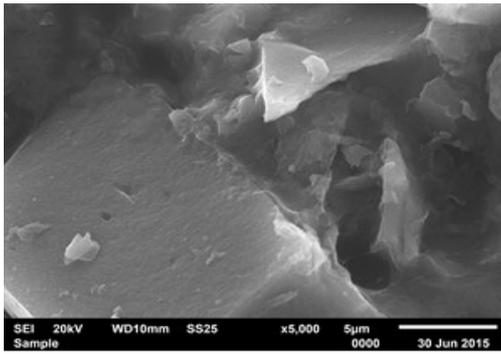
Tujuan dari analisis dengan menggunakan EDX adalah untuk mengetahui kandungan unsur atau senyawa yang terdapat dalam sampel.



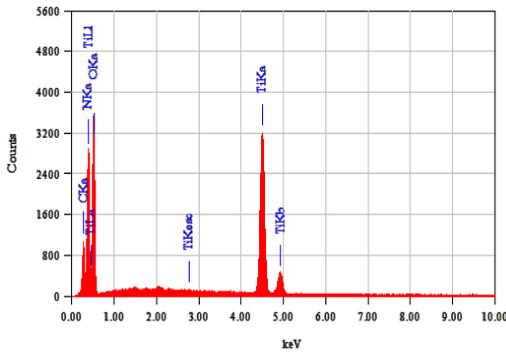
Gambar 1. Morfologi N-Doped TiO_2 Perbesaran 300 X



Gambar 2. Morfologi N-Doped TiO_2 Perbesaran 400 X



Gambar 3. Morfologi N- Doped TiO₂ Perbesaran 500 X



Gambar 4. Data analisis uji EDX sampel N- doped TiO₂

Dalam analisis uji EDX ini di dapatkan hasil, kandungan yang terdapat pada material tersebut antara lain; Carbon (C), Nitrogen (N), Oksigen, dan Ti. Dari data EDS ini dapat dilihat bahwa mengandung C sebesar 13.75 %, N sebesar 54.76 % dan TiO₂ sebesar 31.48 %. Analisis kadar logam Pb dan Cd pada ikan dan kerang dilakukan dengan menggunakan metode serapan sampel, kemudian diinterpolasikan ke dalam kurva kalibrasi standar masing-masing unsur sehingga akan diperoleh konsentrasi regresi masing-masing unsur. Kadar unsur dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar} = \frac{C_{\text{reg}} \times P \times V}{G} \text{ mg/kg}$$

C_{reg} = konsentrasi regresi

P = faktor pengenceran

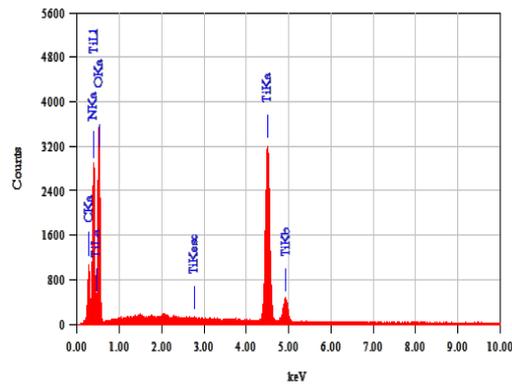
V = volume pelarutan

G = berat sampel

Tabel 1 Rata-rata hasil analisis kandungan Pb dalam ikan

Variasi sampel	Kadar logam Pb ($\mu\text{g/kg}$) $\mu\text{g/kg}$,
Tanpaperlakuan	0,22895
didinginkan	0,2258
Alat pengawet	0,1196

Dari hasil analisis dengan Spektrofotometri serapan atom terlihat bahwa terjadi penurunan kandungan logam berat berbahaya pada ikan dengan tanpa perlakuan, didinginkan dan dengan menggunakan alat pengawet ini. Hasil terbaik ditunjukkan sampel dengan alat pengawet dan pereduksi logam berat berbahaya dengan 0,1196 $\mu\text{g/kg}$. Hipotesis yang sama juga dilakukan dalam analisis kandungan Pb dalam kerang, akan mengalami tingkat penurunan menggunakan alat ini.



Gambar 4. Data analisis uji EDX sampel N- doped TiO₂

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar logam Pb dalam ikan lokasi sampel belum melebihi ambang batas maksimum yang diperbolehkan yaitu di bawah konsentrasi 2,0 $\mu\text{g/L}$ sesuai Keputusan Dirjen POM Republik Indonesia (Dartius, 1996).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan:

1. Kadar logam Pb dalam sampel ikan belum melebihi batas yang ditetapkan oleh Dirjen POM Republik Indonesia.
2. Kandungan logam Pb pada ikan mengalami penurunan yang signifikan menggunakan alat pengawet ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashahi, T. Ohwaki, K. Aoki, Y. Taga, Science 293 (2001) 269–271
- Burgess, Kevin David. 2007. *Self-Cleaning Titania-Polyurethane Composites*.
- Dartius .1996. Kandungan Logam Berat Dalam Kerang di Muara Sungai Asahan. *Artikel Lingkungan dan Pembangunan* 16,1.
- Liu, Xu; Liu, Zhongqing; Jian Zheng, Xin Yan, Dandan Li, Si Chen, Wei Chu, 2011, *Characteristics of N-doped TiO₂ nanotube arrays by N₂-plasma for visible lightdriven photocatalysis*, College of Chemical Engineering, Sichuan University: China
- Lloyd, Richard. 1992. *Pollution and Freshwater Fish*, The Buckland Foundation. Oxford. 18-40

- Nurhadi, I . 2011. *Effects of Guava Leaf Extract (Psidium guajava) on Quality Enhancement of Fresh Tilapia (Oreochromis niloticus)*, University of Riau:Indonesia
- Rani, S.C. Roy, M. Paulose, O.K. Varghese, G.K. Mor, S. Kim, S. Yoriya, T.J.LaTempa, C.A. Grimes, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (2010) 2780–280
- Samal, S.S.; Jeyaraman, P.; Vishwakarma, V, 2010, *Sonochemical Coating of Ag-TiO₂ Nanoparticles on Textile Fabrics for Stain Repellency and Self-Cleaning- The Indian Scenario: A Review*. Sathyabama University: India
- Sutarto, Ratri Indri Hapsari. 2007. *Heavy Metal Contamination In Floating Net Fish Culture (Cyprinus Carpio) At Cirata Water-Reservoir*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Winarno, F.G, 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia

Tepung Talas Sebagai Substitusi Tepung Terigu Pada Produk Pangan

Endang Srihari*, Farid Sri Lingganingrum

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Surabaya

**Email : esriharimochni@yahoo.com*

ABSTRAK

Tanaman talas sangat mudah untuk tumbuh di Indonesia terutama di daerah Papua, Bogor, Malang dan Jember yang merupakan jenis umbi yang memang asli dari Indonesia. Sehingga pengembangan pertanian umbi talas bukan merupakan masalah sulit. Melihat banyak potensi yang bisa dikembangkan pada tanaman talas, Pemerintah sangat menggalakkan makanan yang berbasis tepung lokal yang diharapkan bisa menggantikan bahan pangan pokok yang telah ada seperti beras dan terigu. Bahan dasar tepung terigu adalah gandum yang masih impor, oleh karena itu perlu dimanfaatkan kegunaan tepung talas ini sebagai pengganti tepung terigu. Penggunaan tepung talas memungkinkan munculnya produk olahan talas yang lebih beragam seperti cake, bakpao, cookies dan kue – kue lain. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh kondisi proses pengeringan terhadap karakteristik tepung talas, dan mengaplikasikan tepung talas sebagai salah satu bahan baku cookies. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah talas Bogor sebagai bahan utama pembuatan tepung, dan ditambah dengan tepung terigu, telur, margarine dan gula pasir sebagai bahan pendukung dalam pembuatan cookies. Dari penelitian, diperoleh suhu yang digunakan pada proses pembuatan tepung talas ini adalah 90°C dan waktu yang digunakan adalah 70 menit. Selain itu juga didapatkan bahwa, semakin lama waktu pengeringan maka kadar air akan semakin kecil pada berbagai variasi suhu. Sedangkan, untuk variasi bentuk talas yang dikeringkan, didapatkan bahwa , waktu pengeringan secara parut yang dibutuhkan untuk proses pengeringan lebih lama dibandingkan dengan pada bentuk chip. Kandungan yang dimiliki oleh tepung talas adalah 20% (b/b) Karbohidrat, 0% lemak dan 7,6% (b/b) air.

Kata kunci : Talas, tepung talas, cookies, pengeringan

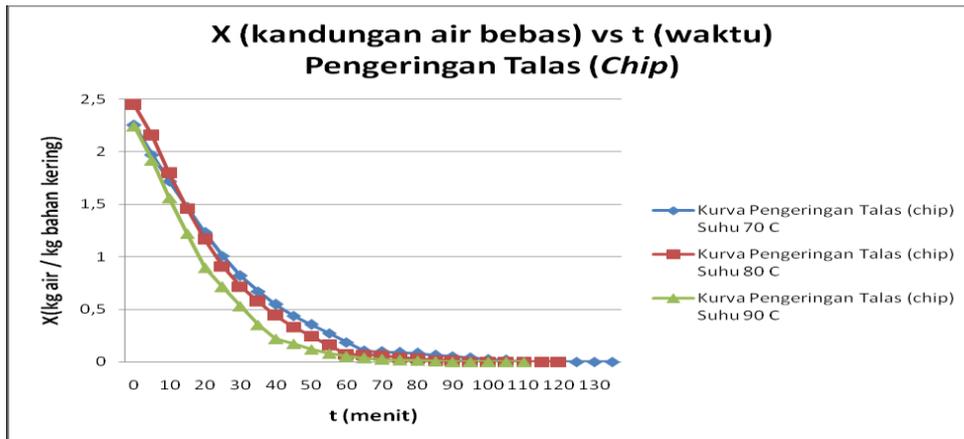
PENDAHULUAN

Talas merupakan bahan pangan yang kaya akan karbohidrat, selain itu talas memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi. Tanaman talas sangat mudah untuk tumbuh di Indonesia terutama di daerah Papua, Bogor, Malang dan Jember yang merupakan jenis umbi yang memang asli dari Indonesia. Sehingga pengembangan pertanian umbi talas bukan merupakan masalah sulit. Melihat banyak potensi yang bisa dikembangkan pada tanaman talas, Pemerintah sangat menggalakkan makanan yang berbasis tepung lokal yang diharapkan bisa menggantikan bahan pangan pokok yang telah ada seperti beras dan terigu. Bahan dasar tepung terigu adalah gandum yang masih impor, oleh karena itu perlu dimanfaatkan kegunaan tepung talas ini sebagai pengganti tepung terigu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dalam 2(dua) tahap, yang pertama adalah melakukan penelitian untuk menentukan suhu dan waktu pengeringan yang terbaik dari 2(dua) bentuk pemotongan, yaitu pemotongan bentuk chip atau parut. Dan tahap yang kedua adalah proses pembuatan tepung dengan suhu dan waktu pengeringan hasil penelitian tahap pertama. Setelah itu dilakukan aplikasi tepung talas dalam produk pangan.

Dalam melakukan penelitian, langkah yang pertama adalah mengupas dan membersihkan talas kemudian memotongnya menjadi bentuk chip. Setelah itu dilakukan pengeringan talas pada suhu dan waktu yang telah ditetapkan pada oven. Talas yang sudah dikeringkan dimasukkan ke dalam blender untuk digiling dan kemudian mengayaknya. Tepung talas kemudian dikemas dalam wadah yang telah disiapkan dan dijaga agar tidak berkontak dengan udara.



Gambar 1 – Kurva pengeringan talas bentuk Chip

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa semakin tinggi suhu pengeringan maka, waktu yang diperlukan untuk mengeringkan bahan semakin cepat. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi suhu yang digunakan, laju pengeringan akan semakin cepat, yang mengakibatkan kandungan air yang terdapat pada bahan pangan akan berpindah ke permukaan bahan dengan cepat dan menjadi uap setelah berkontak dengan udara panas [5], sehingga waktu yang diperlukan untuk pengeringan semakin cepat. Selain itu dapat dilihat juga, bahwa semakin lama waktu pengeringan maka kadar air akan semakin kecil pada berbagai variasi suhu. Hal ini disebabkan, karena selama proses pengeringan terjadi proses penguapan air pada bahan yang dikeringkan. Sehingga semakin lama pengeringan maka banyaknya air yang teruapkan pada bahan yang dikeringkan akan semakin banyak, sehingga kadar air yang diperoleh akan semakin kecil pada berbagai variasi suhu.

Secara teori, proses pengeringan akan berjalan lebih cepat pada bahan yang memiliki luas permukaan lebih besar. Ditinjau dari luas permukaannya, proses pengeringan talas dalam bentuk parut seharusnya berlangsung lebih cepat daripada pengeringan talas dalam bentuk *chip*, namun pada penelitian kami hasilnya bertolak belakang. Pada variasi pengeringan bentuk parut, waktu yang dibutuhkan untuk proses pengeringan lebih lama dibandingkan dengan pada bentuk *chip*. Hal ini dikarenakan, pada bentuk *chip* tebal permukaannya lebih tipis dibandingkan dengan tebal permukaan pada proses pengeringan dalam bentuk parut, sehingga menyebabkan air lebih cepat untuk berpidah dari dalam bahan ke permukaan bahan, yang menyebabkan waktu yang dibutuhkan untuk proses pengeringan pada bentuk parut lebih lama dibandingkan dengan bentuk *chip*.

Berdasarkan hasil kadar air yang didapatkan dari kurva pengeringan, maka pada pembuatan tepung talas digunakan beberapa variasi yaitu untuk bentuk *chip* memakai suhu 90 °C, dan waktu 30 – 40 menit,

sedangkan untuk bentuk parut memakai suhu 90 °C dengan waktu antara 60 – 70 menit. Dimana penentuan waktu tersebut didasarkan bahwa proses pembuatan tepung dilakukan saat kondisi pengeringan bahan telah melewati titik kritis dari bahan tersebut (X_c).

Pengaruh Kondisi Proses Pengeringan terhadap Karakter Organoleptik Tepung Talas

Masing-masing kondisi pengeringan (*chip* dan parut) menghasilkan tepung talas dengan karakter yang berbeda-beda. Penampakan pada produk tepung talas agak sedikit berbeda pada kedua variabel tersebut. Pada suhu dan waktu yang sama, untuk warna pada bentuk *chip* tepung talas yang dihasilkan akan lebih gelap dibandingkan dengan bentuk parut, seperti terlihat pada gambar 4. Hal ini dikarenakan oleh dua faktor yaitu adanya enzim polifenoloksia dan reaksi Maillard, yaitu reaksi antara gula pereduksi dengan gugus NH_2 . Aroma pada masing-masing tepung talas yang dihasilkan sama. Aroma gurih muncul dari tiap-tiap hasilnya.

Pengaruh Kondisi Proses Pengeringan Terhadap Komposisi Proksimat Tepung Talas

Dalam penelitian ini, pengaruh suhu terhadap komposisi tepung talas dipelajari. Adapun komposisi tepung talas yang dianalisa meliputi kadar air, karbohidrat, dan lemak.



Gambar 2. Tepung talas kiri tepung talas hasil dari pengeringan dalam bentuk parut, kanan

hasil pengeringan tepung talas dalam bentuk *chip*. Masing – masing pada suhu 90 °C dan waktu 70 menit.

Tabel 3 - Proksimat Tepung Talas (Parut)

Komponen	%b/b
Karbohidrat	20,0
Lemak	0,0
Air	7,6

Dari hasil penelitian kandungan karbohidrat yang diperoleh sebesar 20% lebih sedikit dibandingkan dengan talas basah. Hal ini karena terjadi pemecahan ikatan dari polisakarida menjadi monosakarida.

Kadar lemak yang diperoleh menunjukkan hasil yang sama dengan kadar lemak hasil analisa talas basah. Proses pemanasan cenderung menyebabkan oksidasi pada lemak yang terkandung dalam tepung talas [17]. Sedangkan dari penelitian Richard Marcel Nguimbou didapatkan kadar lemak pada tepung talas sebesar 1,63%, perbedaan kadar lemak pada penelitian kami dan penelitian Richard Marcel Nguimbou ini, disebabkan oleh perbedaan jenis talas yang digunakan untuk proses pembuatan tepung talas, dimana perbedaan tipe talas mempengaruhi kandungan dari talas tersebut.

Hasil kadar air pada penelitian kami sebesar 7,6%. Hasil yang diperoleh menunjukkan, bahwa kenaikan temperatur pengeringan akan membuat kadar air yang diperoleh akan semakin menurun. Penurunan ini terjadi karena kenaikan temperatur menyebabkan semakin tingginya laju penguapan air [5]. Dari penelitian Richard Marcel Nguimbou didapat kadar air pada tepung talas sebesar 8,17%. Hasil ini tidak jauh berbeda dari hasil penelitian kami, yang mana hasil ini sudah masuk dalam rentang kadar air dalam pembuatan tepung, yaitu <14% [7].

Tepung talas yang dihasilkan memiliki ukuran partikel sebesar 140 *mesh*, dan *bulk density* sebesar 1,8 gr/ml. Ukuran partikel dari tepung talas yang dihasilkan sudah memenuhi standar ukuran tepung. *Bulk density* sebesar 1,8 gr/ml merupakan *bulk density* dari tepung talas hasil pengeringan bentuk parut. *Bulk density* dari tepung talas hasil pengeringan bentuk *chip* adalah sebesar 1,975 gr/ml. Pengaruh *bulk density* adalah di pengemasan. Semakin kecil nilai *bulk density*, maka volume pengemasan akan lebih kecil, sehingga lebih ekonomis.

Aplikasi Tepung Talas pada Pembuatan Cookies

Cookies dibuat melalui proses pencampuran tepung talas dan tepung terigu (dengan masing – masing perbandingan), kemudian ditambahkan pada campuran *margarine*, gula, dan kuning telur yang sudah dikocok sebelumnya. Setelah tercampur dan dicetak, adonan dipanggang pada oven dengan temperatur 130°C selama 25 menit. *Cookies* talas dibuat dengan menggunakan tepung talas yang dipilih (kondisi operasi 90°C selama

70 menit) dengan perbandingan 0% (0:1) sebagai *cookies* kontrol, 50% (1:1) dan 100% (1:0).

Hasil *cookies* yang dibuat kemudian digunakan untuk evaluasi organoleptik untuk mengetahui tingkat kesukaan dan penerimaan konsumen terhadap produk dan produk yang paling disukai tersebut akan dianalisa lebih lanjut.

Analisa Organoleptik

Analisa organoleptik *cookies* yang dilakukan pada penelitian ini meliputi warna, aroma, tekstur, rasa, dan keseluruhan.

Karakteristik Warna

Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0 berwarna lebih terang daripada *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 maupun 0:1.

Hal ini disebabkan tepung talas memberikan pengaruh warna gelap dan tepung terigu memberikan pengaruh warna terang sehingga *cookies* baik dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 dan 0:1 memiliki warna yang cenderung coklat (kurang terang) dibanding dengan *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0. Untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 memiliki warna yang lebih terang daripada *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 0:1. Hal ini dikarenakan adanya tepung terigu yang memberikan pengaruh warna terang sehingga *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1, yang mengandung tepung terigu berwarna lebih terang daripada *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 0:1.



Gambar 3. Penampakan cookies talas dengan perbandingan talas dan terigu dari kiri ke kanan 1:0 , 1;1 ,0:1

Karakteristik Aroma

Cookies dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0, 1:1, & 0:1, memiliki aroma yang berbeda – beda. Untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0 beraroma seperti layaknya *cookies* lainnya yang komposisi utamanya adalah tepung terigu. Untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 memunculkan aroma khas talas

walaupun tidak terlalu terasa. Sedangkan untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 0:1 mampu memunculkan aroma khas talas secara keseluruhan.

Karakteristik Tekstur

Dari hasil tes secara oral, terdapat perbedaan yang sangat nyata antara *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan *cookies* dengan komposisi tepung talas, baik yang komposisi tepung terigu dan tepung talasnya 1:1 maupun 0:1. *Cookies* dengan komposisi tepung terigu dan komposisi tepung talas 1:0 memiliki tekstur yang bila digigit akan memunculkan tekstur yang renyah. Hal itu berbeda dengan *cookies* yang dalam komposisinya terdapat tepung talas. *Cookies* yang dalam komposisinya terdapat tepung talas bila digigit akan memunculkan tekstur yang lembek, sehingga tidak terlalu renyah seperti *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0.

Pada *cookies* yang terdapat tepung talas di dalamnya, semakin banyak komposisi tepung talas dalam *cookies*, maka *cookies* yang dihasilkan semakin lembek dan memunculkan tekstur yang tidak renyah. *Cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 masih lebih renyah daripada *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 0:1.

Karakteristik Rasa

Cookies dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0, 1:1, & 0:1, memiliki rasa yang berbeda – beda. *Cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0 memberikan rasa *cookies* pada umumnya, sedangkan *cookies* yang mengandung tepung talas memberikan rasa khas dari talas.

Pada *cookies* yang terdapat tepung talas di dalamnya, semakin banyak komposisi tepung talas dalam *cookies*, maka rasa khas dari talas lebih mendominasi daripada tepung terigunya. Rasa khas dari talas pada *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 muncul sebagai representatif adanya tepung talas dalam *cookies*, namun rasa khas dari talas itu masih kurang bila dibandingkan dengan *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 0:1.

Karakteristik Keseluruhan

Secara keseluruhan, untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas sebesar 1:0, sebanyak 60% menempatkan di rangking pertama, sebanyak 25% menempatkan di rangking kedua, dan 15% menempatkan di rangking ketiga. Untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas sebesar 1:1, sebanyak 15% menempatkan di rangking pertama, sebanyak 60% menempatkan di rangking kedua, dan 25% menempatkan di rangking ketiga. Untuk *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas sebesar 0:1, sebanyak 25% menempatkan di rangking pertama, sebanyak 15% menempatkan di rangking kedua, dan 60% menempatkan di rangking ketiga.

Analisa Organoleptik Dengan Metode Statistik

Secara kasar, dapat dilihat melalui kuisioner bahwa *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0 menempati rangking pertama, *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:1 menempati rangking kedua, sedangkan *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 0:1 menempati ranking ketiga. Namun, untuk lebih memastikan hasil secara kasar itu diperlukan metode statistik. Melalui metode statistik, dengan menggunakan metode *Multiple Comparison* dan metode *Least Significant Different*, diketahui secara keseluruhan bahwa pada *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0, 1:1, dan 0:1, tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Oleh karena itu perlu dilihat rangking total masing – masing sampel. Rangking total didapatkan dengan cara mengkalikan rangking dengan frekuensi, sehingga semakin rendah nilai dari rangking total menandakan bahwa sampel tersebut mendapatkan tempat pertama dalam rangking. Dari perhitungan rangking total diperoleh *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0, 1:1, 0:1, secara berturut – turut memiliki rangking total 31, 42, 47, sehingga secara berturut – turut *cookies* dengan komposisi tepung terigu dan tepung talas 1:0, 0:1, 1:1 menempati rangking 1,2, dan 3.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang kami lakukan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Semakin tinggi suhu pengeringan maka waktu yang diperlukan untuk mengeringkan bahan semakin cepat.
2. Semakin lama waktu pengeringan maka kadar air akan semakin kecil.
3. Suhu optimal yang diperoleh dalam proses pengeringan talas adalah 90°C dalam rentang waktu 60 – 70 menit pada variasi bentuk talas parut.
4. Pada suhu dan waktu yang sama, untuk warna pada bentuk *chip* tepung talas yang dihasilkan akan lebih gelap dibandingkan dengan bentuk parut.
5. Tepung talas dapat diaplikasikan sebagai salah satu bahan pembuatan *cookies*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bradbury, J.H. and Holloway, W.D. (1988). *Chemistry of Tropical Root Crops: Significance for Nutrition and Agriculture in the Pacific*, ACIAR Monograph No 6. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., Wootton, M., (1987), *Ilmu Pangan*, UI-PRESS, Jakarta.
- Carpenter, Roland. P., Lyon, David. H., Hardell, Terry. A., (2000), *Guidelines for Sensory Analysis in Food Product Development and Quality Control* , ed.2, Aspen Publication, Gaithersburg Maryland.

- Fellows, P, (2000), *Food Processing Technology*, ed.2, Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Geankoplis, C.J., (1983), *Transport Process and Separation Process Principles*, ed.2, Prentice Hall, Upper Saddle River – New Jersey.
- <http://happybloggingtoday.blogspot.com/2012/02/can-pregnant-women-eat-taro.html>, diakses tanggal 20 Januari 2012
- <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/6276>, diakses pada tanggal 16 Februari 2012
- <http://si.uns.ac.id/profil/uploadpublikasi/ekuilibrium/2009-vol%208%20no%201/Bioetanol%20Fuel%20Grade%20dari%20Talas.pdf>, diakses pada tanggal 20 Januari 2012
- <http://www.scribd.com/doc/65487516/tepung-talas>, diakses pada 10 Februari 2012
- N.Y. Njintang , C.M.F Mbofung (2001) Development of Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) flour as an ingredient for food processing : effect of gelatinisation and drying temperature on the dehydration kinetics and the colour of the flour.
- N.Y. Njintang, C.M.F. Mbofung, R.Kesteloot (2006) Multivariate analysis of the effect of drying method and particle size of flour on the instrumental texture characteristic of paste made from two varieties of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) flour.
- N.Y. Njintang, R.M. Nguimbou (2011) Effect of Cross-Section Differences and Drying Temperature on the Physicochemical, Functional and Antioxidant Properties of Giant Taro Flour.
- Potters, Norman. N. Ph.D., (1968), *Food Science*, The AVI Publishing Company, Inc., Westport Connecticut.
- Resurreccion, Anna. V. A., (1998), *Consumer Sensory Testing for Product Development* , Aspen Publication, Gaithersburg Maryland.
- Richard,M.N., Nicolas,Y.N, Himeda,M., (2012). Effect of cross-section differences and drying temperature on the physicochemical, functional and antioxidant properties of giant taro flour.
- Sastrohamidjojo, Hardjono, (2005), *Kimia Organik: Stereokimia, Karbohidrat, Lemak dan Protein*, UGM-PRESS, Yogyakarta.
- Sudarmadji, dkk., (1997), *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Edisi keempat, Penerbit Liberty, Yogyakarta.

Perengkahan *Palm Oil Methyl Ester (POME)* Dengan Katalis Bimetal Ni-Mo/ZAAH

Jam'iyatul Fitria*, Donatus Setyawan Purwo Handoko, dan I Nyoman Adi Winata

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jember

**Email: fitria_je@yahoo.com*

ABSTRAK

Sifat katalitik zeolit alam dalam penelitian ini dioptimalkan melalui proses pengasaman, hidrotermal, dan impregnasi logam Ni dan Mo sehingga menghasilkan katalis bimetal Ni-Mo/ZAAH. Logam Ni yang diimpregnasikan tetap sebesar 2 % dengan variasi logam Mo sebesar 0 %, 1 %, 2 %, 3 %, dan 4 % untuk mengetahui pengaruh konsentrasi logam Ni. Katalis ini digunakan untuk proses perengkahan palm oil methyl ester (POME) menjadi senyawa hidrokarbon lebih pendek. Perengkahan dilakukan dengan reaktor jenis flow fixed bed pada suhu 450 °C dengan laju alir gas nitrogen sebesar 20 mL/menit. Karakterisasi katalis meliputi uji kandungan logam Na, persen logam Ni dan Mo yang terimpregnasi, dan rasio Si/Al menggunakan AAS, serta penentuan keasaman total menggunakan metode gravimetri. Senyawa hasil perengkahan dianalisa menggunakan GC-MS untuk menunjukkan bahwa proses perengkahan telah mampu memotong umpan (POME) menjadi senyawa hidrokarbon lebih pendek. Aktivitas katalis terbaik pada proses perengkahan ditunjukkan oleh variasi logam Ni sebesar 3 %.

Kata Kunci: Perengkahan, Katalis bimetal, Zeolit, Palm Oil Methyl Ester (POME)

PENDAHULUAN

Zeolit alam merupakan salah satu jenis katalis yang sangat melimpah di Indonesia, yaitu mencapai 207,0 juta ton (Departemen Pertambangan dan Energi, 1995). Zeolit dapat dimanfaatkan sebagai katalis pada proses perengkahan untuk menghasilkan bahan bakar cair. Namun demikian, pada umumnya sifat katalitiknya masih cukup rendah. Aktivitas katalitik dari zeolit dapat ditingkatkan melalui proses aktivasi dan modifikasi. Aktifasi zeolit dapat berupa pengasaman dan pemanasan, sementara untuk modifikasi dapat berupa pengembangan suatu logam transisi pada zeolit alam. Logam transisi banyak digunakan karena memiliki sifat katalitik yang cukup baik. Kemampuan ini disebabkan karena logam transisi memiliki orbital *d* yang belum terisi penuh, sehingga kemampuan adsorpsinya terhadap reaktan cukup tinggi. Logam bimetal dapat meningkatkan aktifitas katalis lebih baik dibandingkan dengan logam monometalnya (Santi, 2013).

Logam bimetal yang dapat digunakan pada proses perengkahan salah satunya adalah Ni-Mo. Penelitian yang dilakukan Siswodiharjo (2006) menunjukkan bahwa katalis bimetal Ni-Mo/Zeolit memiliki efektivitas katalis yang lebih baik daripada katalis monometalnya pada proses hidrengkah parafin. Penelitian lain yang dilakukan Trisunaryanti *et al.* (2005) menunjukkan bahwa jumlah logam Ni yang diimbangkan sangat menentukan jumlah situs aktif katalis. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan dengan konsentrasi logam Mo tetap 2 % dan konsentrasi logam Ni divariasi (0 %, 1 %, 2 %, 3 % dan 4 %). Katalis Ni-Mo/zeolit ini digunakan pada proses perengkahan *palm oil methyl ester* (POME) untuk menghasilkan senyawa hidrokarbon lebih pendek. Perengkahan dilakukan

dalam reaktor jenis *flow fixed bed* dengan suhu 450 °C dengan laju alir gas N₂ sebesar 20 mL/s.

METODE

Preparasi Katalis Ni-Mo/ZAAH

Zeolit alam Wonosari dari PT. Prima Zeolita dihaluskan dan diayak dengan ukuran 100 mesh. Zeolit selanjutnya dicuci dengan akuades sampai bersih dan dilanjutkan dengan pemanasan sampai zeolit kering. Tahapan selanjutnya dilakukan pengasaman dengan perendaman dalam larutan HF 1 % selama 30 menit. Dicuci kembali dengan akuades sampai diperoleh pH 6 dan dikeringkan. Zeolit yang didapatkan selanjutnya di kalsinasi dan dioksidasi masing-masing selama 2 jam pada temperatur 500°C sehingga diperoleh **Katalis ZA** (Setyawan, 2013).

Katalis ZA yang didapat selanjutnya diasamkan diasamkan kembali dengan perendaman dalam larutan HCl 2 M selama 30 menit. Dicuci kembali dengan akuades sampai diperoleh pH 6 dan dikeringkan. Zeolit yang didapatkan selanjutnya di kalsinasi dan dioksidasi kembali masing-masing selama 2 jam pada temperatur 500°C. Pengasaman katalis ZA dilanjutkan kembali dengan cara perendaman dalam larutan NH₄Cl 2 M sambil dipanaskan dan diaduk pada temperatur 90°C selama 4 jam (Zhang, 1999). Katalis ZA yang telah diasamkan dicuci kembali dengan akuades hingga diperoleh pH 6 dan dikeringkan. Katalis ZA yang didapatkan selanjutnya di kalsinasi dan dioksidasi kembali masing-masing selama 2 jam pada temperatur 500°C (Setyawan, 2013). Selanjutnya dilakukan

proses hidrotermal dengan mengalirkan uap air pada kolom pemanas yang berisi zeolit ZA selama 6 jam (Triyono *et al.*, 2010) sehingga didapatkan Katalis ZAAH.

Katalis ZAAH yang telah didapatkan selanjutnya diimpregnasi dengan logam aktif Mo dengan cara melarutkan sebanyak 4,42 gram $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya ditambahkan katalis ZAAH sebanyak 115,58 gram dan dipanaskan pada temperatur 80-90°C sambil diaduk sampai air teruapkan. Katalis selanjutnya dikeringkan. Dilanjutkan dengan proses oksidasi dan kalsinasi pada temperatur 500°C masing-masing selama 2 jam dengan laju alir gas sebesar 20 mL/menit sehingga diperoleh Katalis Mo/ZAAH.

Katalis Mo/ZAAH yang diperoleh selanjutnya diimpregnasi kembali dengan logam aktif Ni dengan berbagai variasi (0 %, 1 %, 2 %, 3 % dan 4 %) dengan cara yang sama seperti pada proses impregnasi logam aktif Mo, dengan menggunakan larutan garam $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ secara berturut-turut sebanyak 0 gram; 0,81 gram; 1,62 gram; 2,43 gram dan 3,24 gram dalam total berat katalis 20 gram sehingga didapatkan **katalis Ni-Mo/ZAAH** dengan berbagai konsentrasi logam Ni. Katalis Ni-Mo/ZAAH yang didapatkan kemudian dikarakterisasi dengan cara menganalisa rasio Si/Al, logam Na, serta logam Mo dan Ni yang berhasil terimpregnasi dengan menggunakan AAS dan keasaman dengan metode gravimetri.

Transesterifikasi Minyak Sawit

Sebanyak 100 g minyak sawit dengan merk Filma dipanaskan pada temperatur 110°C selama 30 menit. Dilanjutkan dengan penambahan larutan 0,895 gram NaOH dalam 84,99 mL metanol. Campuran selanjutnya direfluk selama 4 jam pada temperatur 60°C. Hasil didinginkan pada suhu kamar selama lebih kurang 12 jam hingga terpisah menjadi dua fasa. Diambil fraksi metil ester yang dihasilkan dan dicuci menggunakan akuades, kemudian akuades yang masih tersisa diuapkan pada temperatur 100-120°C sehingga didapatkan POME yang siap dijadikan umpan dalam proses perengkahan (Setyawan, 2013).

Proses Perengkahan POME dengan Menggunakan Katalis Ni-Mo/ZAAH

Diambil POME sebanyak 10 gram dan dilakukan proses perengkahan dalam reaktor *flow fixed bed* dengan temperatur 450°C dan laju alir gas N_2 sebesar 20 mL/menit selama 30 menit. Perengkahan ini dilakukan secara termal (tanpa katalis) dan dengan katalis Ni-Mo/ZAAH dengan variasi Ni sebesar 0 %, 1 %, 2 %, 3 % dan 4 % sebanyak 10 gram (Setyawan, 2013). Produk perengkahan ditampung dalam botol kaca kecil untuk selanjutnya dapat dianalisis menggunakan GC-MS. Penentuan aktivitas katalis ditentukan dengan cara membandingkan hasil perengkahan dengan umpan awal (POME).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Katalis

Rasio Si/Al

Nilai rasio Si/Al pada zeolit alam mengalami peningkatan setelah diberikan perlakuan pengasaman dan hidrotermal ditampilkan dalam Gambar 1.

Nilai rasio Si/Al berbanding lurus dengan aktivitas katalis (Satterfield, 1980). Untuk itu, semakin besar nilai Si/Al, maka akan semakin baik. Hal ini dikarenakan dengan meningkatnya rasio Si/Al, maka sifat katalis akan lebih bersifat non polar. Sifat non polar ini menyebabkan jenis katalis Si/Al tinggi cocok untuk perengkahan dengan umpan yang bersifat non polar seperti POME.

Persentase Logam Na

Persentase logam Na cenderung mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya jumlah logam Ni dalam Gambar 2.

Logam Na sebagai salah satu logam penyeimbang muatan dalam zeolit menyebabkan zeolit cenderung bersifat tidak stabil dan lebih cepat kehilangan aktivitasnya (Lloyd, 2011). Untuk itu, dengan semakin menurunnya jumlah logam Na, maka karakteristik dari katalis akan semakin baik yang mana ditunjukkan oleh katalis Ni 4-Mo/ZAAH. Penurunan ini dapat terjadi karena adanya penggantian logam Na dengan logam aktif Mo dan Ni.

Persentase logam Mo dan Ni

Logam Mo terus mengalami penurunan seiring kenaikan jumlah logam Ni dalam Gambar 3. Jumlah logam Mo mengalami penurunan karena pada proses impregnasi logam Ni, ada sebagian yang mengalami pelepasan dan digantikan dengan logam Ni yang memiliki ukuran lebih kecil.

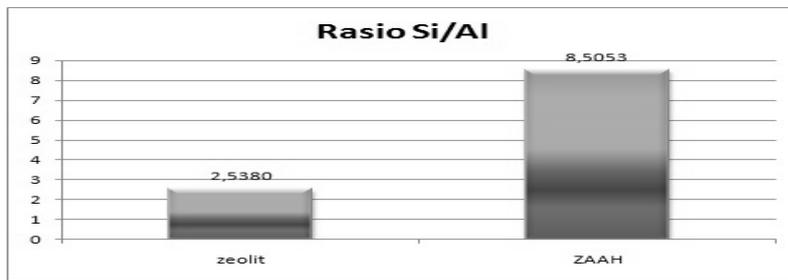
Keasaman

Nilai keasaman terus meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah logam Ni yang diimpregnasikan. Nilai keasaman ini terus meningkat dikarenakan dengan semakin banyaknya jumlah logam aktif dalam zeolit, maka akan semakin bertambah situs asam pada katalis.

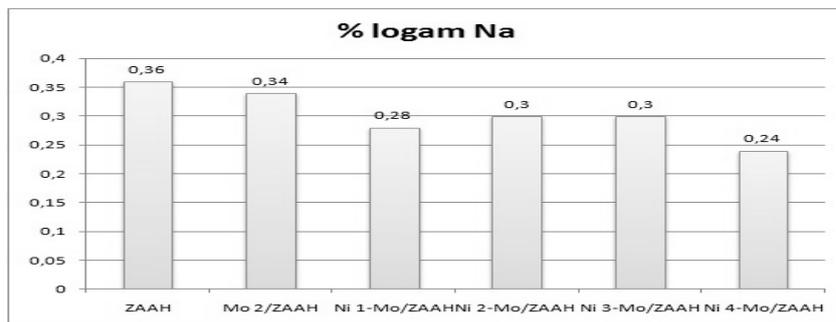
Hal ini dapat terjadi karena baik pada logam Mo maupun Ni memiliki orbital d yang masih belum terisi penuh, sehingga mampu menerima pasangan elektron (sebagai asam lewis).

Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Trisunaryanti *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa zeolit dengan penambahan logam bimetal (paduan dari logam Ni dan Mo) dapat meningkatkan situs asam pada katalis dibandingkan dengan zeolit tanpa penambahan maupun dengan penambahan logam tunggalnya.

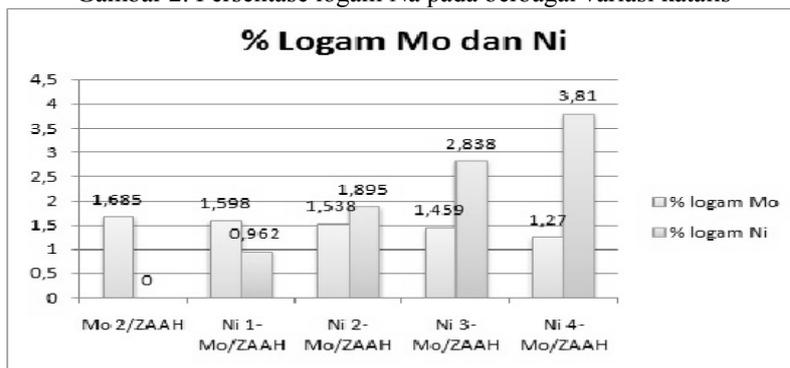
Produk Hasil Perengkahan. Perengkahan menyebabkan Senyawa dengan atom C lebih pendek mengalami peningkatan, sementara senyawa dengan atom C lebih panjang mengalami penurunan jika dibandingkan dengan umpan awal.



Gambar 1. Rasio Si/Al pada zeolit dan ZAAH



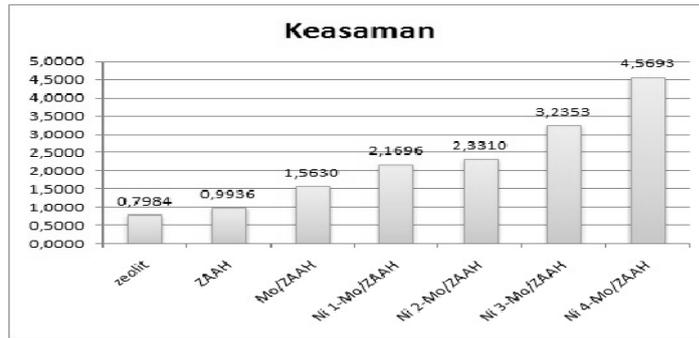
Gambar 2. Persentase logam Na pada berbagai variasi katalis



Gambar 3. Persentase logam Mo dan Ni yang berhasil terimpregnasi

Tabel 1. Persentase senyawa pada umpan awal dan produk hasil perengkahan

Senyawa produk	Awal	Termal	Mo 2%	Ni 1%-Mo	Ni 2%-Mo	Ni 3%-Mo	Ni 4%- Mo
Metil Miristat	1,52%	1,86%	1,67%	1,77%	1,72%	1,99%	1,73%
Metil Palmitat	34,93%	39,00%	37,67%	35,92%	37,24%	38,60%	35,72%
Metil Oleat	50,24%	49,71%	50,25%	51,72%	50,62%	48,32%	51,99%
Metil Stearat	12,65%	9,03%	9,76%	9,91%	9,73%	8,43%	9,88%
Metil Eicosanoat	0,45%	0,41%	0,42%	0,46%	0,47%	0,39%	0,45%
Metil Elaidat / metil oleat	0,21%	-	-	-	-	-	-
Metil Linoleat	-	-	-	-	-	2,28%	-
2-siklopenten-1-on	-	-	0,22%	0,22%	0,22%	-	0,24%



Gambar 4. Nilai keasaman pada berbagai katalis

Kenaikan persentase senyawa dengan rantai C pendek (Metil Miristat dan Metil Palmitat) menunjukkan bahwa telah terjadi pemotongan karbon pada ujung senyawa dengan rantai C lebih panjang. Pemotongan ini kemungkinan hanya terjadi pada ujung rantai dan bukan pada gugus fungsinya, sehingga cenderung tidak menghasilkan produk baru. Hal ini dapat terjadi karena perengkahan menghasilkan C₂ sebagai produk mayor sebagai hasil pemotongan pada ujung rantai (Sadeghbeigi, 2000).

KESIMPULAN

Karakter katalis terbaik ditunjukkan oleh katalis bimetal Ni 4-Mo/ZAAH, sementara aktivitas katalis terbaik dalam proses perengkahan POME ditunjukkan oleh Ni 3-Mo/ZAAH. Perengkahan mampu dengan katalis bimetal Ni-Mo/ZAAH memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan termal dan umpan awal. Namun demikian, pemotongan yang terjadi hanya memotong rantai ujung dengan tanpa mengubah gugus fungsi, sehingga cenderung tidak menghasilkan senyawa baru.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen Pertambangan dan Energi. 1995. Pedoman Teknis Penyusunan Upaya Pengelolaan Lingkungan dan Upaya Pemantauan Lingkungan untuk Kegiatan Pertambangan Umum, Minyak, dan Gas Bumi serta Listrik dan Pengembangan Energi. Jakarta: Departemen Pertambangan dan Energi RI.

- Llyod, L. 2011. Handbook of Industrial Catalysts; Fundamental and Applied Catalysis. New York: Springer.
- Sadeghbeigi, R. 2000. Fluid Catalytic Cracking Handbook. United State of America: Gulf Professional Publishing.
- Santi, D. 2013. Modifikasi Zeolit Alam sebagai Katalis dan Uji Aktivitas Katalis dalam Reaksi Hidrorengkah Minyak Kulit Jambu Mete (*Anacardium Occidentale*) menjadi Biogasoline dan Biodiesel. Papua: Universitas Negeri Papua.
- Satterfield. 1980. Heterogeneous Catalysis In Practice. New York: Mc Graw-Hill Book Company.
- Setyawan, D.P.H., 2013. "Konversi Metil Oleat Menjadi Rantai Hidrokarbon Rantai Lebih Pendek." Tidak Dipublikasikan. Disertasi. Yogyakarta: FMIPA Kimia UGM.
- Siswodiharjo. 2006. "Reaksi Hidrorengkah Katalis Ni/Zeolit, Mo/Zeolit, NiMo/Zeolit terhadap Parafin." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Trisunaryanti, Triwahyuni, dan Sudono. 2005. Preparasi dan Karakterisasi Katalis Ni-Mo/Zeolit Alam dan Mo-Ni/Zeolit Alam. Journal of The Japan Petroleum Institute, 10: 1–15.
- Triyono, Witanto, E., dan Trisunaryanti, W. 2010. Preparasi dan Karakterisasi Katalis Ni-Mo/Zeolit Alam Aktif. Seminar Nasional VI. ISSN 1978-0176.
- Zhang, Y. 1998. Research on Hydrogenation of Fatty Alcohol at Supercritical Condition. Beijing: Beijing Institute of Petrochemical Technology.

Sintesis Dan Karakterisasi Hidrogel Hasil Polimerisasi Cangkok Asam Akrilat-Akrilamida Pada Kitin Yang Diisolasi Secara Enzimatis Dari Limbah Udang

Heksa Desi Amaliya, Achmad Sjaifullah*, Agung Budi Santoso

Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember

*E-mail: Sjaiful.fmipa@unej.ac.id

ABSTRAK

Hidrogel merupakan polimer jaringan hidrofilik yang mampu menyerap banyak air. Hidrogel berhasil dibuat menggunakan kitin yang diisolasi secara enzimatis dari limbah udang memanfaatkan enzim protease dari sistem pencernaan udang dalam limbah itu sendiri. Pemanfaatan enzim menurunkan penggunaan senyawa kimia yang tidak ramah lingkungan. Kitin yang diisolasi secara enzimatis dipolimerisasi cangkok dengan campuran asam akrilat (AA) dan akrilamida (AAm) untuk membentuk hidrogel kitin-poli(AA-ko-AAm) menggunakan metode polimerisasi larutan sederhana dengan inisiator kalium persulfat sebagai pemicu reaksi adisi radikal. Hidrogel dikarakterisasi %grafting, swelling, dan spektra IR-nya. %grafting cenderung meningkat dengan peningkatan berat monomer AA dan AAm. Hidrogel dengan perbandingan berat Kitin:AA:AAm = 1:10:10 memiliki nilai %grafting tertinggi yaitu 1725,629% dan swelling terbesar yaitu 202,016 g/g dari bobot kering hidrogel.

Kata Kunci: hidrogel, kitin, enzim protease, hidrogel kitin-poli(AA-ko-AAm)

PENDAHULUAN

Indonesia adalah Negara maritim yang memiliki wilayah kelautan sangat luas menyebabkan sumber daya kelautan dan perikanan berlimpah (Dahuri, 2001). Salah satu potensi hasil laut Indonesia adalah udang. Tahun 2010-2013 rata-rata permintaan udang baik domestik maupun ekspor meningkat (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2014). Peningkatan produksi dan pemasaran udang berdampak pada peningkatan limbah udang. Kandungan kitin pada limbah udang berpotensi untuk diisolasi. Kitin dapat diisolasi dengan memisahkan kandungan protein, mineral dan pigmen dari limbah udang (No et al., 1989). Kitin telah berhasil diisolasi sebesar 14-35 % dari kulit crustacea (Kurniasih dan dwiasih, 2007).

Kemajuan di bidang bioteknologi, memungkinkan dilakukannya isolasi kitin dengan memanfaatkan proses-proses enzimatis untuk mengurangi penggunaan senyawa kimia yang tidak ramah lingkungan. Enzim protease dari *Mucor pusillus* efektif mendeproteinasi cangkang udang dalam penelitian Yunianta (2006). Pemisahan protein limbah udang menggunakan ekstrak kasar protease isi perut ikan lemuru berhasil dilakukan Juniarso (2008). Merujuk pada keefektifan aktifitas enzim protease, maka penelitian ini mencoba melakukan deproteinasi kitin menggunakan enzim protease yang terkandung pada sistem pencernaan (isi kepala udang) limbah udang itu sendiri.

Penelitian dan pengembangan kitin sangat pesat terfokus pada aplikasi derivat kitin yaitu kitosan yang banyak diaplikasikan dalam sintesis hidrogel (Marganof, 2002; Heller et al., 1990; Kumar, 2000). Hidrogel merupakan jaringan hidrofilik yang dapat menyerap air sedikitnya 20% dari berat keringnya (Park & Park, 1996). Hidrogel telah banyak dimanfaatkan

dalam aplikasi biomedis dan pertanian (Erizalet al., 2011). Padahal, hidrogel berbasis kitin dengan pencangkokan monomer asam akrilat telah berhasil dibuat oleh Tanodekaew et al. (2004), sehingga penelitian ini mengacu pada pembuatan hidrogel berbasis kitin. Pembuatan hidrogel menggunakan metode polimerisasi cangkok pada kitin yang diisolasi secara enzimatis. Kitin berupa padatan amorf dapat larut menggunakan campuran NaOH dan Urea (Hu et al., 2007). Campuran asam akrilat dan akrilamida digunakan sebagai campuran monomer cangkok. Sintesis Hidrogel dengan pencangkokan asam akrilat memiliki keterbatasan dalam penyerapan air dengan sifat fisik yang relatif rendah, sehingga perlu penambahan monomer akrilamida yang juga bersifat mampu menyerap air. Penambahan monomer lain yang sesuai pada suatu jenis monomer akan menaikkan sifat fisik hidrogel yang dihasilkan (Erizal, 2010).

Dari ulasan di atas, fokus penelitian ini, mengetahui perbandingan kitin enzimatis dan kimiawi serta karakter hidrogel kitin enzimatis yang dicangkok AA dan AAm dengan perbandingan variasi berat. Inisiator yang digunakan $K_2S_2O_8$. Karakterisasi hidrogel yang didapatkan menggunakan pengukuran persen cangkok (%grafting) dan kapasitas penyerapan air (swelling) serta analisis spektra IR.

METODE PENELITIAN

Bahan

Limbah udang (kulit, kepala, ekor, kaki) dari pabrik pembekuan udang PT Istana Cipta Sembada Banyuwangi, indikator universal, asam akrilat ($\rho = 1,051 \text{ g/cm}^3$), aseton (E-Merck, Mr: 58,07 g/mol, $\rho: 0,79 \text{ g/mL}$), aluminium foil, HCl 37% (pa) (E-Merck $\rho = 1,19 \text{ g/mL}$), larutan H_2SO_4 (E-Merck, Mr: 98,07 g/mol,

ρ :1,84 g/mL), CuSO₄ (E-Merck 249,68 g/mol), Na₂CO₃ (E-Merck Mr = 105,99 g/mol), KCl (E-Merck), TCA (Riedel-de Haen, Mr = 163,39 g/mol), Kasein (E-Merck), BSA (Fluka), L-Tirosin (E-Merck, Mr: 181,19 g/mol), Buffer pH 1, Comassie brilliant blue (CBB), etanol 99% (E-Merck), asam fosfat 85%, H₃BO₃ (Riedel-de Haen, Mr = 61,83 g/mol), indikator *methyl orange* (E-Merck Mr = 327,34 g/mol), indikator *methyl red* (E-Merck Mr = 629,31 g/mol), akrilamida (C₃H₅NO) padat, K₂S₂O₈ (E-Merck Mr = 270, 32 g/mol), akuades, kertas saring, NaOH (Teknis) padat, NaOCl 12% (teknis), urea padat dan indikator *bromecresol green* (Fluka).

Prosedur Kerja

Isolasi kitin dilakukan secara enzimatik dan kimiawi. Isolasi secara enzimatik dengan merendam limbah cangkang udang dalam larutan HCl 1 M selama 10 hari dan dilakukan pengontrolan pH 1-2. Isolasi enzimatik memanfaatkan enzim protease pada sistem pencernaan limbah udang untuk menghidrolisis protein. Aktivitas protease pada limbah udang diuji menggunakan metode Horikoshi dan pengujian kadar protein ekstrak kasar dengan metode Bradford untuk mendukung adanya aktivitas enzim pada limbah udang. Isolasi kitin secara kimiawi dilakukan berdasarkan metode Noet al. (1989) dimodifikasi dengan tiga tahapan yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan depigmentasi. Karakterisasi kitin meliputi kadar nitrogen, air, abu, dan pengukuran spektra IR. Kitin hasil isolasi enzimatik digunakan untuk sintesis hidrogel melalui polimerisasi cangkok radikal bebas. Kitin dilarutkan dalam NaOH 8%/urea 4% sesuai dengan metode Hu et al., (1996). Larutan kitin ditambahkan inisiator kalium persulfat (1% dari total monomer) dan campuran asam akrilat dan akrilamida dengan variasi kitin : AA: AAm (1:6:6, 1:6:8, 1:6:10, 1:8:6, 1:8:8, 1:8:10, 1:10:6, 1:10:8, dan 1:10:10 (b/b). Karakterisasi Kitin meliputi %grafting, swelling, dan spektra IR.

	Bilangan Gelombang Kitin			Jenis Vibrasi
	(Kurniasih & dwiasi 2007)	kimiawi	Enzimatis	
1:6:10,	3448,5	3445,92	3450,98	<i>stretching</i>
1:8:6,				OH alkohol
1:8:8,				<i>stretching</i>
1:8:10,				N-H amida
1:10:6,	3271,0	3115,00	3101,96	sekunder
1:10:8,				<i>stretching</i>
dan				C-H
1:10:10	2885,3	2922,57	2922	<i>bending</i>
(b/b).	1380,9	1376,75	1377,48	-CH ₃
Karakterisasi				<i>stretching</i>
Kitin	1658,7	1650,29	1648,50	C=O amida
meliputi				<i>bending</i>
%grafting,	1558,4	1556,75	1541,21	N-H amida
swelling,	1311,5	1313,62	1314,34	<i>bending</i>
g, dan	1157,2;	1155,06;	1155;	C-N
spektra	1072,3	1071,62	1070,74	<i>bending</i>
IR.	dan	dan	dan	C-O dari
	1026,1	1029,07	1030,60	C-O-C dan
				C-O-H

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Ekstrak Kasar Protease Limbah Udang

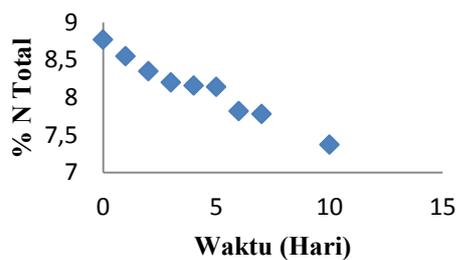
Kadar protein pada ekstrak kasar protease dari limbah udang (isi kepala) didapatkan sebesar 0,718 mg/ml. Hasil aktivitas enzim total dan spesifik ekstrak kasar protease pada penelitian sebesar 8,951 unit/ml dan 12,466 unit/mg yang terukur pada pH 1 dan suhu ruang (25°C). Nilai aktivitas total pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan Rizal (2008) sebesar 12,780 unit/ml yang terukur pada pH 1 suhu 40°C disebabkan pengukuran aktivitas tidak pada suhu optimum protease asam seperti pepsin. Pepsin optimum pada pH 2 dan suhu 40°C (Whitaker, 1994).

Kitin Kimiawi dan Enzimatis dari Limbah Udang

Isolasi kitin dapat dilakukan dengan cara kimiawi dan enzimatik. Isolasi enzimatik menggunakan peredaman limbah udang segar dalam larutan HCl 1M. Hidrolisis protein oleh enzim protease limbah udang diuji dengan pengukuran %N total menggunakan metode Kjeldahl setiap 24 jam. Hasil uji kadar N total metode Kjeldahl selama 10 hari disajikan pada gambar 1.

Berdasarkan pada gambar 1, terjadi penurunan %N total tiap harinya pada sampel yang diisolasi secara enzimatik. Penurunan % N total hari pertama hingga hari ketiga terlihat tajam dimungkinkan pada hari pertama enzim masih bekerja dengan baik sedangkan pada hari selanjutnya terjadi penurunan aktivitas. Kadar N total hari ke-10 mendekati kitin kimiawi sehingga dilakukan pengambilan sampel. Kadar N kitin enzimatik mirip dengan kitin kimiawi yaitu 6,51% meskipun nilainya sedikit lebih besar yaitu 6,77%. Kedua nilai tersebut sesuai dengan literatur No, *et al* (1989) dimana kadar N kitin komersial kurang dari 6,9%, Dutta *et al.*, 2004 dimana kandungan nitrogen kitin 5-8%, Brzeski (1982) sebesar 6,14-6,96%, Rutherford & Austin (1978) sebesar 6,7-8,3%, Synowieckit & Al-Hateeb (2000) sebesar 6,58%.

Keberhasilan demineralisasi diuji menggunakan analisis kadar abu. Hasil rata-rata kadar abu serbuk limbah udang, kitin kimiawi dan enzimatik berturut-turut sebesar 24,081 %, 0,971% dan 1,169%. Nilai kadar abu kitin sesuai dengan literatur Brzeski (1982) dimana tidak lebih dari 3%, Rutherford dan Austin (1978) dimana kadar abu pada kisaran 0,6-4,0 %. Depigmentasi kitin menggunakan aseton dan NaOCl. Aseton dapat melarutkan pigmen udang (*astaxanthin*) dan NaOCl mampu mengoksidasi pigmen *astaxanthin* sehingga kitin yang dihasilkan tampak lebih putih. Hasil depigmentasi disajikan pada gambar 2.



Gambar 1. Grafik Penurunan Kadar N total Limbah Udang

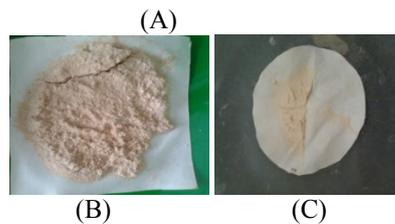
Tabel 1. Hasil IR Kitin

Terjadi penurunan kadar nitrogen yang signifikan pada hari ke-1 hingga hari ke-6, hal ini menunjukkan kerja enzim protease dalam menghidrolisis protein optimal pada hari tersebut. Dan terjadi penurunan kadar nitrogen yang tidak signifikan dari hari ke-6 hingga hari ke-10 karena terjadi penurunan aktifitas dari enzim. Kadar nitrogen sampel pada hari ke-10 merupakan kadar nitrogen total dari kitin yaitu sebesar 5,77%. Pada penelitian yang dilakukan Mirzani & Aminlari (2007) kadar nitrogen pada kitin juga sekitar 5,87%. Tabel 1 menunjukkan kadar nitrogen total dari limbah udang, kitin enzimatik, dan kitin kimiawi.

Sampel H-0 dan sampel setelah isolasi diuji kadar abu-nya untuk mengetahui hasil demineralisasi.

Rata-rata kadar abu H-0 dan kitin hasil isolasi secara kimiawi berturut-turut sebesar 18,94% dan 0,87%. Kadar abu menurun setelah demineralisasi, hal ini menunjukkan bahwa demineralisasi yang dilakukan telah berhasil. Menurut Sini *et al.*, (2007), kadar abu kitin sebesar $0,854 \pm 0,04\%$. Jika dibandingkan, kitin kimiawi yang diperoleh mendekati dengan nilai pada literatur. Kadar abu kitin enzimatik, setelah perendaman dengan HCl berkurang sebanyak hampir 18% dari sampel awal. Rata-rata kandungan mineral kitin hasil isolasi enzimatik yaitu 1,01%. Kadar abu kitin enzimatik lebih tinggi karena proses deminerasinya tanpa penambahan suhu dan ukuran sampel yang didemineralisasi lebih besar, sehingga pemutusan mineral pada cangkang udang kurang efektif.

Gambar 2 menunjukkan spektra kitin. Kedua spektra FTIR diatas memiliki kemiripan dan menunjukkan pita serapan khas dari kitin.



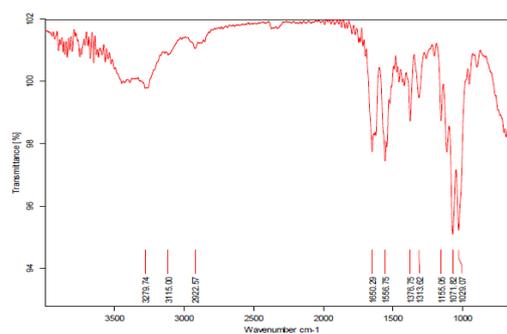
Gambar 2. Penampakan Serbuk Udang (A), Kitin Enzimatis (B), dan Kitin Kimiawi (C)

Sehingga isolasi kitin secara enzimatik dapat dianggap efektif sebagai alternatif isolasi kitin pada limbah udang. Terjadi perbedaan persen transmitan dari kitin kimiawi dan enzimatik pada bilangan gelombang 1623cm^{-1} dan 1648cm^{-1} , hal ini karena konsentrasi gugus C=O asetamida pada kitin enzimatik lebih tinggi dibandingkan kitin kimiawi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh isolasi kitin secara enzimatik lebih murni dan bersih dari campuran.

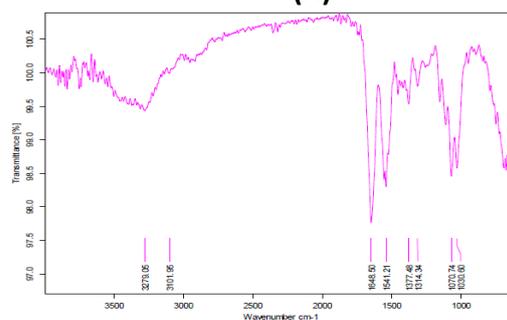
Sintesis Hidrogel

Gambar 3 menunjukkan besarnya %add-on hidrogel Kitin-Aam-MBA. Dan gambar 4 menunjukkan swelling hidrogel.

Gambar 3 menunjukkan penambahan monomer pada rantai kitin mengalami kenaikan seiring bertambahnya jumlah Aam dan MBA. Hidrogel dicuci dengan aseton dan air untuk melarutkan homopolimer yang terbentuk selama proses polimerisasi. Pengurangan massa sebelum dan sesudah pencucian sangat sedikit, ini menunjukkan bahwa homopolimer yang terjadi sangat sedikit dan banyaknya monomer

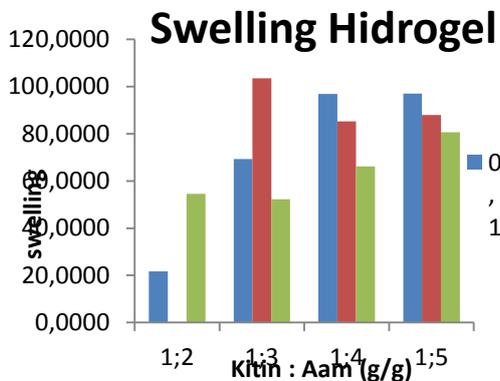


(A)



(B)

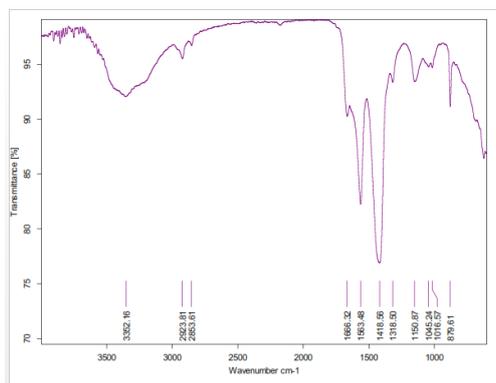
Gambar 3. Spektra IR Kitin Kimiawi(A)dan Kitin Enzimatis (B)



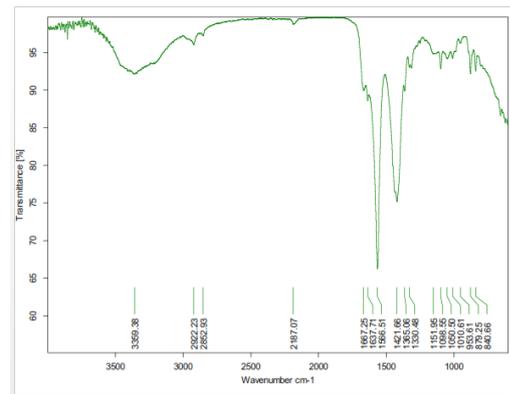
Gambar 4. Swelling

yang terangkok dan terikat silang. Selain homopolimer yang larut, terdapat lapisan tipis sekitar irisan hidrogel yang ikut larut dalam air. Hal ini disebabkan terlalu banyak gugus hidrofil pada polimer yang mengikat air, sehingga lapisan tipis ini lepas dari rantai polimer dan larut dalam air. Pada hidrogel 1:2:0,15 hidrogel yang terbentuk hanya larutan kental, dan larut ketika dicuci sehingga tidak dapat dihitung %add-on.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada hidrogel dengan perbandingan kitin : Aam sebesar 1:4 dan 1:5 dan MBA 0,1; 0,15; 0,2 gram memiliki trend semakin banyak MBA, maka kapasitas absorpsi hidrogel semakin rendah. Hal ini menunjukkan semakin banyak rantai kitin-Aam yang terikat silang, maka daya serap airnya menurun. MBA mengikat silang rantai polimer cangkok sehingga jarak antar rantai semakin dekat menyebabkan air yang terjebak diantara rantai semakin sedikit. Hidrogel dengan perbandingan kitin 1:3:0,15 g memiliki absorpsi tertinggi.



(a)



(b)

Gambar 5. Spektra FTIR Hidrogel (a) 1:5:0,1 & (b) 1:5:0,15

Muncul sinyal serapan O-H dan N-H pada bilangan gelombang 3352 cm^{-1} setelah polimerisasi. Intensitas pada peak OH menurun dari 3448,72 cm^{-1} menjadi 3352 cm^{-1} karena overlapping dengan stretching N-H dari akrilamida. Hal ini menunjukkan OH kitin berkurang setelah polimerisasi. *Stretching* C=O amida dengan frekuensi yang rendah pada bilangan gelombang 1666,32 cm^{-1} menunjukkan amida dari akrilamida. *Bending* amida sekunder muncul pada panjang gelombang 1563,48 cm^{-1} , sinyal ini menunjukkan adanya mba yang mengikat silang rantai kitin-aam. Dengan analisis gugus fungsi pada hidrogel dapat diketahui bahwa terjadi polimerisasi cangkok dan ikat silang pada kitin.

KESIMPULAN

Rendemen massa kitin enzimatis sebesar 9,72%, sedangkan menurut literatur rendemen dari berat basah limbah sebesar 6%. Perbedaan ini disebabkan oleh banyaknya air limbah udang yang terambil saat isolasi. Karakteristik kitin enzimatis yaitu kadar N total dan kadar abu berturut-turut 5,77% dan 1,01% sedangkan kitin kimiawi sebesar 5,81% dan 0,87%. Karakteristik kitin enzimatis mendekati kitin kimiawi. Selain itu Spektrum IR kitin enzimatis dan kimiawi menunjukkan kemiripan. Hidrogel dengan swelling paling tinggi pada perbandingan kitin:Aam dan MBA 1:3 0,5 gram yaitu sebesar 103,5370 dan %Add-on menunjukkan semakin besar jumlah monomer yang tambahkan semakin tinggi %Add-on. Hidrogel dengan penambahan MBA 1,5 gram sangat keras dan mudah pecah.

DAFTAR PUSTAKA

Focher, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, and Terbojevich, A. 1992. Structural Differences Between Chitin Polimorphs And Their Precipitates Solution Evidance From CP-MAS 13, FT-IR, and

- FT-Rahman Spectroscopy. *Charbohidrat Polimer* 17 (2).
- Hu, X., Du, Y., Tang, Y., Wang, Q., Feng, T., Yang, J., Kennedy, J. F. 2007. Solubility and property of chitin in NaOH/urea aqueous solution. *Elsivier. Carbohydrate Polymers* 70 : 451–458.
- Mirzani, A.M., and Aminlari, B.M. 2007. *A New Process for Deproteinization of Chitin from Shrimp Head Waste*. Congress of Chemical Engineering : Copen hagen.
- Muzzarelli, R. A. A. 1985. Chitin in the Polysaccharides. *Academic press Inc.* Orlando, San Diego Vol 3 (147).
- Shahidi, F., and Synowiecki, J. 1991. Isolation and Characterization of Nutrient and Value-Added Products from Snow Crab (*Chionoectes opilio*) and Shrimp (*Pandalus borealis*) Processing Discards. *J. Agrid. Food Chem* 39 : 1527 – 1532.
- Sini, T.K., Santosh, S., dan Mathew, P.T. 2007. Study on The Production of Chitin and Chitosan from Shrimp Shell by Using *Bacillus Subtilis* Fermentation. *Carbohydrate Research* 342 : 2423-2429.
- Stevens, M. P. *Kimia Polimer*. Terjemahan oleh Iis Sopyan. 2007. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Tanodekaew, S., Prasitsilp, M., Swasdison, S., Thavornyutikarn, B., Pothsree, T., Pateepasen, R. 2004. Preparation of Acrylic Grafted Chitin for Wound Dressing Application. *Biomaterials*. 25 (2004) : 1453-1460.
- Toan, N. V., Ng-How, C., Aye, K.Y., and Trans, T. S. 2006. Production of High-Quality Chitin and Chitosan from Precondition Shrimp Shells. *J. Chemical technology and Biotechnologi* (81).

Ekstraksi Silika Dari Fly Ash Batubara (Studi Pengaruh Variasi Waktu Ekstraksi, Jenis Asam Dan pH)

M. H. A. Fatony*, T. Haryati, M. Mintadi

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

*E-mail: hisyam.fatony@gmail.com

ABSTRAK

Fly ash merupakan produk sisa pembakaran batubara dengan kandungan senyawa diantaranya SiO_2 33,3%, Al_2O_3 14%, Fe_2O_3 26,2%, CaO 22,1 %, K_2O 1,3%, SO_3 0,5%, dan TiO_2 1,18% . Silika dalam fly ash memiliki persentase paling tinggi sehingga cukup potensial untuk diolah menjadi silika bahkan silicon. Metode yang digunakan meliputi proses leaching dengan asam, ekstraksi, analisa kualitatif dengan FTIR dan analisa kuantitatif dengan gravimetri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu ekstraksi, jenis asam dan pH pengendapan terhadap massa silika xerogel dan kadar silika. Silika diekstrak menggunakan NaOH 3M dengan variasi waktu 120, 150 dan 180 menit, diendapkan dengan HCl dan asam sulfat pada rentang pH 5-7. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka massa silika xerogel semakin tinggi, reagen HCl lebih efisien jika dibandingkan asam sulfat karena menghasilkan kadar silika paling tinggi berturut-turut sebesar 31,17 % dan 30,27 %. Diperoleh pH optimum untuk menghasilkan silika xerogel paling tinggi pada pH 6-6,5 , sedangkan pH optimum untuk menghasilkan kadar paling tinggi pada rentang 5-5,5. Hasil FTIR menunjukkan silika xerogel mengandung gugus Si-O dari siloksan (Si-O-Si) pada bilangan gelombang 1076 dan 1082,51 cm^{-1} .

Kata Kunci : Silika, Fly ash, FTIR

PENDAHULUAN

Berdasarkan laporan monitoring lingkungan oleh PT.SUCOFINDO tahun 2013 jumlah *fly ash* yang diproduksi oleh PLTU PAITON selama tahun 2013 sekitar 48.019 ton. Sebanyak 47.602 ton telah dimanfaatkan oleh pihak ketiga seperti pabrik semen sehingga jumlah *fly ash* yang ditimbun sisa 417 ton (PT. SCOFINDO. 2013)

Komposisi kimia *fly ash* PLTU Paiton memiliki kandungan senyawa senyawa SiO_2 33,3%, Al_2O_3 14%, Fe_2O_3 26,2%, CaO 22,1 %, K_2O 1,3%, SO_3 0,5%, dan TiO_2 1,18%. Data tersebut menunjukkan silika memiliki persentase lebih tinggi dibandingkan senyawa lain sehingga bisa dijadikan bahan mentah untuk mendapatkan silika (Wiyanti, N. D., dan Ediaty, R. 2010).

Silika adalah bahan utama yang terkandung dalam banyak batuan, seperti granit dan batuan pasir. Silika gel merupakan partikel koloid dengan bentuk tiga dimensi yang kaku sedangkan bubuk silika adalah partikel silika gel yang saling terhubung satu sama lain dalam ikatan yang lemah (Iler, K. R. 1978).

Menurut Kalapathy., *et al* (2002) ekstraksi silika meliputi beberapa proses diantaranya *leaching*, ekstraksi, dan pengendapan. *Leaching* bertujuan untuk mengurangi pengotor, ekstraksi adalah proses pemisahan silika dari *fly ash*, dan pengendapan silika untuk menghasilkan xerogel (Kalapathy, U., Proctor, A., & Shultz, j. 2002). Xerogel merupakan bentuk silika gel yang telah dihilangkan pelarutnya dengan cara

diuapkan [Kalapathy, U., Proctor, A., & Shultz, J. 2000].

Berdasarkan penelitian Kalapathy., *et al* (2000) ekstraksi silika dari sekam padi memiliki pH optimum proses *leaching* pada pH 1 yang mampu mengurangi kandungan oksida logam lain hingga tersisa kadar kurang dari 0,1% (Prasad, R., & Pandey, M. 2012). Penelitian Kalapathy., *et al* (2002) memperoleh kadar silika yang lebih tinggi pada pH 4 dibandingkan dibandingkan pH 7 (Kalapathy, U., Proctor, A., & Shultz, j. 2002). Silika xerogel yang dihasilkan akan dilakukan analisis kualitatif menggunakan alat FTIR sedangkan analisis kuantitatif menggunakan metode gravimetri.

METODE PENELITIAN

Alat gelas, ball pipet, corong buchner, desikator, FTIR, kertas saring *Whatman* No. 41, kertas saring *Whatman* No. 40, neraca analitik *ohaus*, oven, pengaduk stirrer magnetik, pH meter, pipet mohr, pipet tetes, pipet volum, termometer, tungku pemanas (*furnace*), wadah platina, dan cawan nikel.

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *fly ash*. Bahan kimia yang digunakan adalah Akuades, Asam Oksalat, Borak, HCl merkck 37%, H_2SO_4 merkck 98%, kristal NaOH dan HF merkck 48%.

Preparasi sampel

50 gram *fly ash* dimasukkan ke dalam beaker dan ditambahkan 250 mL akuades panas suhu 100° C, diaduk dan didiamkan selama 2 jam (Retnosari, 2013). Selanjutnya didekantasi dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100° C selama 12 jam.

Proses leaching fly ash

Fly ash yang telah dicuci, ditimbang sebanyak 30 gram dan dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 180 mL akuades, ditambahkan HCl 1M hingga pH 1 (Kalapathy., *et al* 2000). Larutan diaduk dengan stirrer magnetik dengan kecepatan 300 rpm selama 2 jam. Kemudian disaring dengan corong *buchner* dan residunya dicuci dengan akuades untuk menghilangkan klorida hingga pH filtratnya netral. Residu dimasukkan dalam oven pada suhu 100° C selama 24 jam.

Ekstraksi silika dari fly ash

Fly ash yang telah melalui proses *leaching* ditimbang 25 g dan direndam dalam 150 mL NaOH 3M. Kemudian dipanaskan pada suhu 70° C dan disertai pengadukan konstan pada 150 rpm (Retnosari, 2013) pada variasi waktu ekstraksi 120, 150 dan 180 menit. Larutan disaring dengan kertas saring *whatman* No. 41 selanjutnya filtrat didinginkan pada temperatur ruang, kemudian diendapkan dengan ditambahkan larutan H₂SO₄ 1M disertai pengadukan konstan menggunakan stirrer magnetik pada 150 rpm, penambahan asam diulang dengan menggunakan HCl 1M. Penambahan asam dilakukan pada rentang pH 5-5,5; 5,5-6; 6-6,5 dan 6,5-7. Kemudian dilakukan proses *aging* selama 18 jam. Selanjutnya disaring dan residunya dikeringkan dalam oven pada suhu 80° C selama 12 jam untuk menghasilkan *xerogel*.

Analisa Kualitatif menggunakan FTIR

Xerogel yang dihasilkan dari proses ekstraksi selanjutnya dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada xerogel.

Analisa kuantitatif menggunakan metode gravimetri

1 gram xerogel ditimbang, dan dimasukkan dalam beaker 120 mL. Kemudian ditambahkan 5 mL HCl 1:1 (v/v), lalu diuapkan diatas *hot plate*, selama penguapan ditambahkan 15 mL HCl 1:1 (v/v). Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 110° C selama 30 menit. Kemudian ditambahkan 5 mL HCl 1:1 (v/v) dan 50 mL akuades panas. Larutan disaring dalam kondisi panas dengan kertas saring ukuran medium No. 40. Wadah beserta residu dicuci dengan HCl 1:50 (v/v) selanjutnya dengan sedikit akuades panas hingga larutan pencuci bersifat netral. Residu dan kertas saring ditempatkan dalam cawan dan dioven pada suhu 110° C selama 30 menit, perlakuan tersebut dilakukan duplo. Selanjutnya kertas saring dan residu ditempatkan dalam cawan nikel dan difurnace pada suhu 900° C selama 30 menit. Sampel didinginkan dalam desikator selama 20 menit, ditimbang, hingga diperoleh berat konstan

(sebagai massa sebelum direaksikan dengan HF). Berat cawan dan isinya dicatat. Sampel dimasukkan dalam beaker 120 mL. Selanjutnya residu ditambahkan 5 mL akuades, dan 4 tetes H₂SO₄ 1:1 (v/v) kemudian ditambah 10 mL HF 48 %, lalu diuapkan diatas *hot plate*. Kemudian sampel ditempatkan dalam cawan nikel dan difurnace pada 900° C. Kemudian dimasukkan kedalam desikator selama 20 menit dan dicatat berat hingga konstan (sebagai massa setelah direaksikan dengan HF).

Penghitungan kadar SiO₂ dilakukan dengan mengurangi berat wadah dan isinya sebelum perlakuan HF dengan berat setelah perlakuan HF.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses *leaching* dilakukan pada kondisi larutan dengan nilai pH 1 karena pada pH tersebut efektif untuk mengurangi pengotor yang merupakan oksida logam lain dalam *fly ash* (Kalapathy, 2000). Berdasarkan reaksi diatas, pengotor bisa bereaksi dengan HCl membentuk garam dan air. Garam FeCl₃, KCl dan AlCl₃ sangat larut dalam air (Kurniati, 2009). Kelebihan asam dihilangkan dengan cara pencucian residu *fly ash* saat filtrasi hingga filtrat hasil pencucian mencapai pH netral sehingga jumlah pengotor juga akan berkurang.

Silika xerogel hasil ekstraksi dan massa silika hasil gravimetri

Silika xerogel merupakan bentuk silika gel yang telah dihilangkan pelarutnya dengan cara diuapkan (Prasad & Pandey, 2012). Hasil penelitian menunjukkan silika xerogel dengan pengendap HCl diperoleh massa rata-rata tertinggi sebesar 2,758 gram dan massa rata-rata tertinggi dengan pengendap H₂SO₄ adalah 3,361 gram.

Hasil analisa kuantitatif dengan metode gravimetri

Hasil penelitian menunjukkan kadar rata-rata silika tertinggi dengan pengendap HCl pada waktu ekstraksi 180 menit adalah 31,17 persen dan kadar rata-rata silika tertinggi dengan pengendap H₂SO₄ pada waktu ekstraksi 150 menit adalah 30,27 persen. Sedangkan massa rata-rata silika paling tinggi untuk hasil gravimetri dengan pengendap HCl dan H₂SO₄ beturut-turut adalah 0,313 gram pada 180 menit dan 0,304 gram pada 150 menit. Massa silika xerogel, dan kadar silika yang diperoleh dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya waktu ekstraksi, pengasaman, serta pH selama proses terbentuknya gel. Berikut akan dijelaskan bagaimana faktor diatas berlaku terhadap hasil ekstrak dan kadar SiO₂ dalam silika xerogel.

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap massa silika xerogel

Massa silika xerogel dengan pengendap HCl ditampilkan pada Gambar 1.a massa xerogel paling tinggi diperoleh pada waktu ekstraksi 180 menit di

semua rentang pH akan tetapi kenaikannya tidak signifikan dibandingkan massa xerogel dari 120 menit ke 150 menit. Sedangkan massa silika xerogel yang diperoleh dengan pengendap H_2SO_4 seperti pada Gambar 1.b yang juga menampilkan pola massa dari tiga variasi waktu ekstraksi, diperoleh massa xerogel tertinggi terletak pada waktu ekstraksi 150 menit karena terjadi penurunan massa xerogel pada waktu ekstraksi 180 menit di semua rentang pH. Berdasarkan penjelasan tersebut dapat dikatakan bahwa kemampuan pelarut untuk bereaksi terhadap kandungan silika dalam *fly ash* yang terambil akan semakin besar seiring meningkatnya waktu ekstraksi. Akan tetapi hal tersebut tidak berlaku saat waktu ekstraksi 180 menit karena mengalami penurunan massa xerogel.

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap kadar silika

Grafik pada waktu ekstraksi 180 menit dengan reagen HCl merupakan waktu optimum untuk menghasilkan kadar silika paling tinggi seperti yang tampak pada Gambar 2.a. Ketiga waktu ekstraksi untuk reagen H_2SO_4 pada Gambar 2.b menunjukkan grafik waktu ekstraksi 150 menit merupakan waktu optimum untuk memperoleh kadar paling tinggi, karena pada waktu ekstraksi 180 menit kadar silikanya lebih rendah bahkan dibawah nilai kadar silika pada grafik waktu ekstraksi 120 menit, hal ini mungkin disebabkan oleh pengotor dalam xerogelnya.

Pengaruh asam dan pH terhadap massa silika xerogel

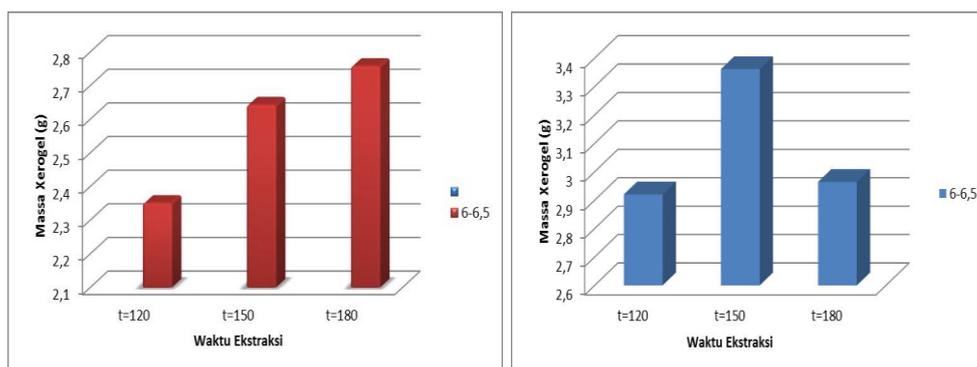
Massa xerogel yang diperoleh menggunakan reagen H_2SO_4 lebih besar dibandingkan dengan HCl. Selain itu pengendapan dengan reagen H_2SO_4 lebih optimal jika melihat volume dari H_2SO_4 yang ditambahkan pada

rentang pH yang sama lebih sedikit dibandingkan HCl mengingat H_2SO_4 merupakan asam kuat diprotik sehingga proton yang bereaksi jumlahnya sama dengan volume yang lebih sedikit.

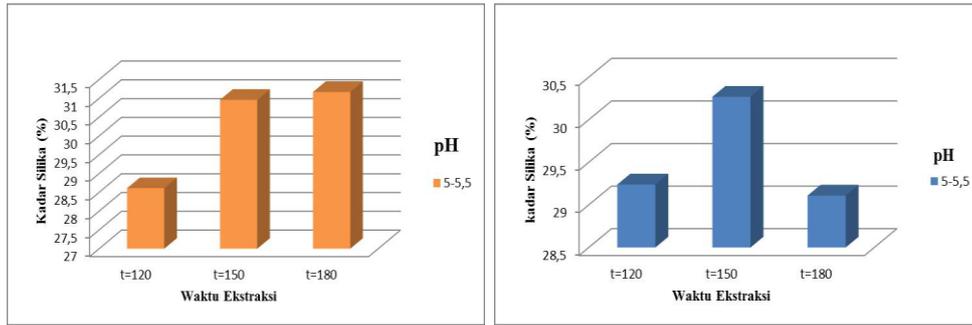
Gambar 3 menampilkan massa xerogel disetiap rentang pH pada waktu ekstraksi 150 menit. Massa xerogel paling tinggi terdapat pada rentang pH 6-6,5 kemudian mulai menurun pada pH 6,5-7. Perubahan massa pada rentang pH tertentu tidak lepas dari efek pH pada proses gelling. Gambar 4 menunjukkan massa rata-rata xerogel paling tinggi pada rentang pH 6-6,5 masing-masing untuk HCl sebesar 2,463 gram dan 3,361 gram untuk H_2SO_4 artinya pH tersebut merupakan pH optimum untuk menghasilkan xerogel.

Pengaruh jenis asam dan pH terhadap kadar silika

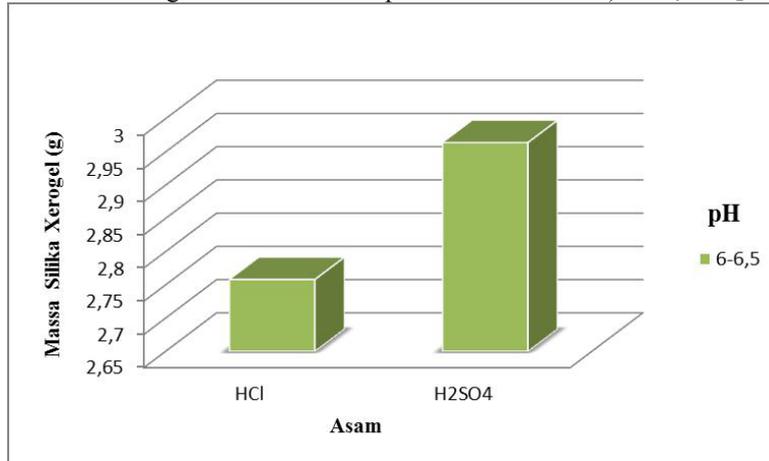
Gambar 5 menunjukkan kadar silika dengan reagen HCl memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan reagen H_2SO_4 pada waktu ekstraksi 150 menit, khususnya pada rentang pH 5-5,5 di mana pada pH tersebut massa dan kadar silika memiliki nilai paling tinggi baik diseluruh waktu ekstraksi dan di kedua asam. Kemungkinan yang terjadi pada xerogel dengan reagen H_2SO_4 khususnya pada rentang pH 5-5,5 terdapat koagulan seperti kation-kation dari oksida logam lain seperti Al_2O_3 , CaO bahkan Fe_2O_3 yang bisa menyebabkan terjadinya koagulasi dimana akan dihasilkan endapan bukan gel. Proses gelling pada pH asam memang berlangsung lambat akan tetapi partikelnya meningkat dalam jumlah dan menurun dalam ukurannya memiliki muatan yang sedikit sehingga kemungkinan terjadi tumbukan dan agregasi semakin besar. Selain itu gel yang dihasilkan pada pH asam memudahkan proses difusi ion natrium dan anion lain sehingga kadar silikanya lebih tinggi.



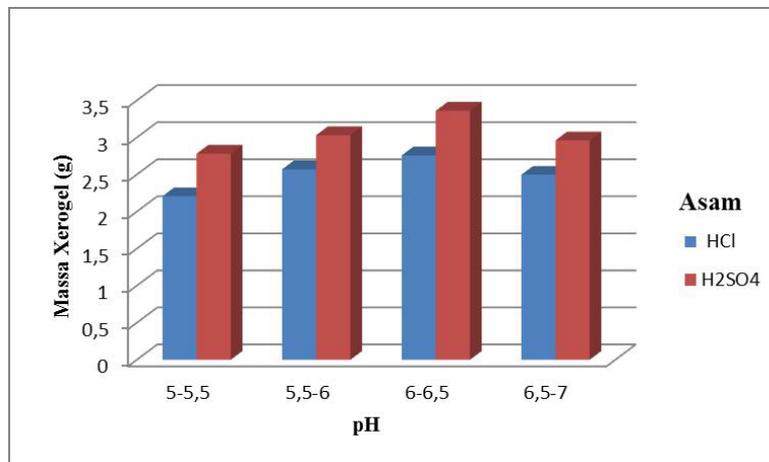
Gambar 1. Grafik massa xerogel dengan reagen : a). HCl, b). H_2SO_4



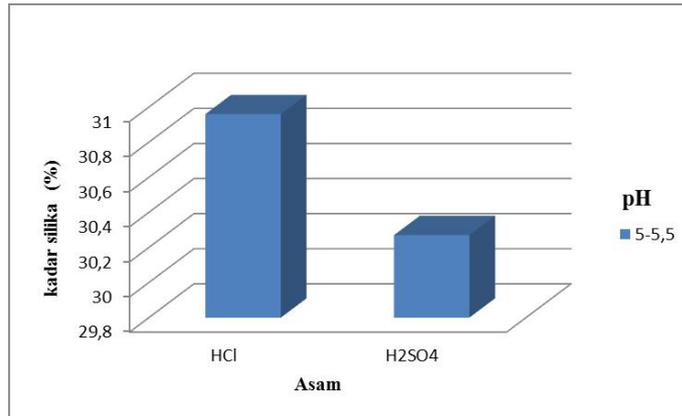
Gambar 2. Pengaruh waktu terhadap kadar silika oleh: a). HCl, b). H₂SO₄



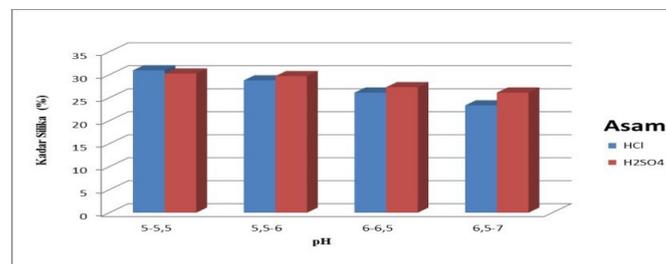
Gambar 3. Pengaruh asam terhadap massa xerogel



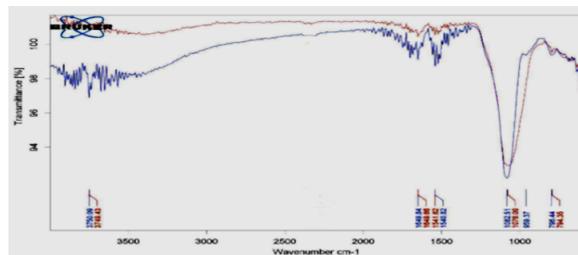
Gambar 4. Pengaruh pH terhadap massa xerogel



Gambar 5. Pengaruh asam terhadap kadar SiO₂



Gambar 6. Pengaruh pH terhadap kadar SiO₂



Gambar 7. Spektra IR silika xerogel dari *fly ash*

Hasil Karakterisasi silika xerogel menggunakan FTIR

Berdasarkan puncak yang muncul pada kurva IR Gambar 7, xerogel yang diperoleh memiliki kandungan silika didalamnya. Puncak paling tajam muncul didominasi oleh ikatan Si-O dari siloksan (Si-O-Si) sebagai vibrasi ulur asimetrik dan vibrasi ulur simetrik, juga muncul vibrasi ulur dari silanol (Si-OH). Data bilangan gelombang yang muncul bisa dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Bilangan gelombang dan gugus fungsi silika xerogel

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Gugus Fungsi
HCl	H ₂ SO ₄	
796,44	794,35	Vibrasi ulur simetris (Si-O-Si)

959,37	-	Vibrasi ulur (Si-OH)
1082,51	1076	Vibrasi ulur asimetris (Si-O-Si)
1649,84	1649,66	Vibrasi tekuk (H ₂ O)
3750,09	3749,43	Vibrasi (OH)

KESIMPULAN

Semakin lama waktu ekstraksi maka semakin meningkat massa xerogel dan kadar silikanya. Reagen H₂SO₄ menghasilkan massa xerogel yang lebih besar dibandingkan dengan reagen HCl, akan tetapi HCl memiliki efektifitas lebih baik dengan menghasilkan kadar silika lebih tinggi daripada H₂SO₄. Massa xerogel paling tinggi diperoleh pada pH 6-6,5 sedangkan kadar silika paling tinggi diperoleh pada pH 5-5,5. Hasil FTIR menunjukkan bahwa xerogel memiliki kandungan silika

dengan munculnya gugus fungsi siloksan pada bilangan gelombang $1082,51\text{ cm}^{-1}$ dan 1076 cm^{-1} .

DAFTAR PUSTAKA

- PT. SCOFINDO. 2013. "Monitoring Lingkungan, Laporan Tahunan. Makalah. Jakarta : Sprint Consultant
- Wiyanti, N. D., dan Ediati, R. 2010. "Sintesis MCM-41 Menggunakan Sumber Silika Dari Abu Layang Batubara PT. IPMOMI Paiton Dengan Variasi Komposisi dan Waktu Hidrotermal" Skripsi. Surabaya : ITS.
- Iler, K. R. 1978. *The Chemistry Of Silica, Solubility, Polymerization, Colloid and Biochemistry*. Wiley Interscience Publication : Cornel University.
- Kalapathy, U., Proctor, A., & Shultz, j. 2002 . " An Improved Methode For Production Of Silica From Rice Hull Ash. *Elsevier Bioresource Technology*. Vol. 85 (5) : 285-289
- Kalapathy, U., Proctor, A., & Shultz, J. 2000. " Simple Methode For Production Pure Silica From Rice Hull Ash". *Elsevier Bioresource Technology*. Vol. 73 (3): 257-262
- Prasad, R., & Pandey, M. 2012. " Rice Husk Ash as a Renewable Source For The Production Of Value Added Silica Gel And Its Aplication: An Overview ". *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*. Vol 7 (1) : 1-25

Pengaruh Ion Logam Fe²⁺, Cu²⁺ Dan Al³⁺ Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Selulase Dari *Bacillus subtilis* SF01 Asal Limbah Ampas Tebu

Lavenia Tanwijaya, Ketut Afrilliana Pratiwi, Emi Sukarti, Henry Kurnia Setiawan,
Lanny Hartanti*

Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya
*Email: lanny.hartanti@ukwms.ac.id; lanny.hartanti@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan karakterisasi lanjut terhadap enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01, yaitu menentukan manakah dari antara ion logam Fe²⁺, Cu²⁺ dan Al³⁺ yang dapat menjadi kofaktor atau inhibitor. Produksi selulase dilakukan dengan fermentasi bakteri di media Nutrient Broth + Carboxymethyl Cellulose (CMC) 1% selama 21 jam. Enzim ditentukan kadarnya dengan metode Bradford dan pembandingan Bovine Serum Albumin (BSA). Setelah diinkubasi dengan ion logam selama 20 menit, aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0 suhu 60°C selama 45 menit inkubasi, kemudian direaksikan dengan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan diamati secara spektrofotometri pada λ 550 nm. Aktivitas enzim dibandingkan dengan kontrol tanpa ion logam dan dianalisis dengan One Way ANOVA ($\alpha = 95\%$) dan post hoc Tuckey HSD. Penambahan ion Fe²⁺ tidak mempengaruhi aktivitas enzim, namun pemberian ion Cu²⁺ bersifat sebagai inhibitor sedangkan ion Al³⁺ bertindak sebagai aktivator ekstrak kasar enzim selulase asal isolat *Bacillus subtilis* SF01.

Kata Kunci: limbah ampas tebu, *Bacillus subtilis* SF01, kofaktor, inhibitor, selulase

PENDAHULUAN

Selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan glikosidik β -1,4 pada rantai selulosa yang dapat diproduksi oleh beberapa fungi, protozoa, tumbuhan dan bakteri seperti *Cellulomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Micrococcus sp.* (Shanmugapriya, *et al.* 2012). Selulase biasa digunakan dalam berbagai industri seperti industri tekstil, industri makanan, industri detergen dan sebagai bahan untuk menghidrolisis selulosa menjadi metal selulosa dan etil selulosa yang dapat digunakan dalam industri farmasi (Augsburger & Hoag 2008).

Pada penelitian terdahulu telah ditemukan isolate bakteri murni yang memiliki aktivitas selulolitik yang diisolasi dari ampas tebu dan setelah dilakukan berbagai pengujian, isolate bakteri tersebut dinamakan *Bacillus subtilis* SF01 (Susanto 2012; Ariputri 2014). Kemudian dilakukan karakterisasi isolate *Bacillus subtilis* SF01 dan didapatkan karakter yang spesifik seperti waktu panen isolate bakteriyang optimal pada jam ke-17 sampai ke-24 sedangkan waktu optimum untuk produksi ekstrak kasar enzim selulase dari isolat bakteri tersebut adalah pada jam ke-20 dengan suhu produksi 37°C. Ekstrak kasar enzim selulase dari isolate *Bacillus subtilis* SF01 memiliki aktivitas optimum pada suhu 60°C dengan pH 5,0. Karakteristik spesifik dari isolate *Bacillus subtilis* SF01 ini selanjutnya digunakan sebagai acuan untuk proses produksi dan proses pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim selulase (Utami 2015; Hartanti, *et al.* 2014, in press).

Di samping karakteristik yang telah ditentukan di penelitian sebelumnya, perlu diketahui pula bahan apa saja yang dapat meningkatkan (aktivator) atau menurunkan (inhibitor) aktivitas dari enzim selulase dari isolate *Bacillus subtilis* SF01. Ion Fe²⁺ yang biasa digunakan dalam proses Fenton untuk mendegradasi selulosa menjadi biomasa (Bhange, *et al.* 2015), dapat menyebabkan penurunan aktivitas pada enzim selulase dari *Bacillus subtilis* LFS3 (Rawat & Tewari 2012). Ion Cu²⁺ dapat menurunkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari usus *Balano gastriskolae* (Femi-Ola & Bamidele 2012). Ion Al³⁺ dapat menurunkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari kedelai yang difermentasi (Xiao, *et al.* 2014). Namun demikian, ion logam dapat memberikan pengaruh yang berbeda pada enzim dari sumber organisme yang berbeda, seperti penambahan ion logam Fe²⁺ pada enzim selulase dari *Bacillus subtilis* NS7 yang diisolasi dari tanah menunjukkan peningkatan aktivitas (Bansal, *et al.* 2012) dan ion Cu²⁺ dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari bagian rhizosfer cabai (Narasimhan, *et al.* 2013). Dengan demikian dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi mengenai dasar pertimbangan pemilihan bahan untuk proses purifikasi dan aplikasi enzim selulase dari isolate *Bacillus subtilis* SF01 yang memiliki efek negative seminimal mungkin.

METODE PENELITIAN

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah CMC (Merck KGaA, Jerman), nutrient agar (Merck KGaA, Jerman), nutrient broth (Merck KGaA, Jerman), reagen asam dinitro salisilat, reagen Bradford, bovine serum albumin (Merck KGaA, Jerman) glukosa monohidrat (Riedel-de Haen, Jerman), aquades, air murni kualitas 1 (resistivity 18,2 MΩ cm (mQ)), FeCl₂ (Merck KGaA, Jerman), CuCl₂ (Merck KGaA, Jerman), AlCl₃ (Merck KGaA, Jerman).

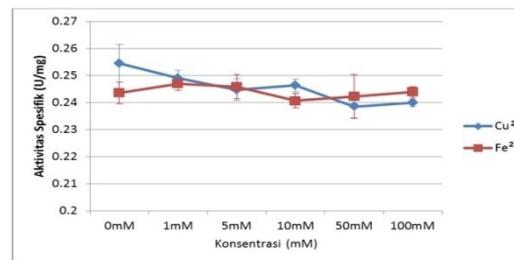
Metode

Proses produksi selulase dari isolate *Bacillus subtilis* SF01 dilakukan dengan meremajakan bakteri pada Nutrient Agar selama 24 jam. Kemudian bakteri diambil untuk difermentasikan pada media Nutrient Broth yang telah ditambah carboxymethyl cellulose (CMC) 1% selama 21 jam sebagai inokulum (*starter*). Satu Persen inokulum diambil dan difermentasikan kembali pada 100 ml media Nutrient Broth yang telah ditambah CMC 1% selama 21 jam sebagai media produksi. Setelah didiamkan selama 21 jam, media produksi di sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm dan suhu 4°C selama 30 menit untuk memisahkan supernatant dan platelet. Supernatant yang digunakan merupakan ekstrak kasar enzim selulase (enzim selulase dan media cair). Ekstrak kasar enzim selulase yang diperoleh ditentukan kadarnya dengan metode Bradford dengan pembandingan Bovine Serum Albumin (BSA). Ekstrak kasar enzim selulase sebanyak 300 µl diinkubasi dengan larutan ion logam selama 20 menit. Aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% 100 µl pada pH 5,0 suhu 60°C selama 45 menit inkubasi. Gula pereduksi yang dihasilkan direaksikan dengan pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan diamati secara spektrofotometri pada panjang gelombang 550 nm dan dibandingkan dengan glukosa. Penentuan aktivitas spesifik enzim dilakukan sebanyak 4 kali replikasi. Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dibandingkan dengan control tanpa pemberian ion logam dan dianalisis *One Way* ANOVA ($\alpha = 95\%$) dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tuckey HSD.

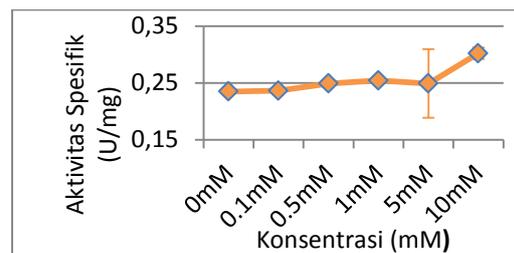
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dengan pemberian ion Fe²⁺ diperoleh hasil analisis menggunakan *One Way* ANOVA ($\alpha = 95\%$, $p > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dengan pemberian ion Fe²⁺ dan tanpa pemberian ion Fe²⁺ (Gambar 1, Tabel 1). Ion Fe²⁺ merupakan salah satu ion logam berat yang dapat merusak sisi aktif enzim. Efek yang ditimbulkan dapat berbeda-beda bergantung pada penghasil enzim selulase tersebut, seperti penambahan ion Fe²⁺ yang dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* NS7 yang diisolasi dari tanah oleh Bansal, *et al* (2012) dan memberikan efek inhibitor pada *Bacillus subtilis* LSF3 (Rawat & Tewari

2012). Namun lain hal dengan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dengan pemberian ion Cu²⁺. Ion Cu²⁺ menyebabkan penurunan aktivitas (inhibitor) (Gambar 1, Tabel 1) dan ditunjukkan secara statistika bahwa terdapat perbedaan bermakna antara ekstrak kasar enzim tanpa pemberian ion Cu²⁺ dengan ekstrak kasar enzim selulase tanpa pemberian ion (*One Way* ANOVA, $\alpha = 95\%$, $p < 0.05$). Hal ini dapat terjadi karena Cu²⁺ merupakan salah satu ion logam berat yang dapat mengganggu struktur enzim sehingga pembentukan kompleks enzim-substrat terganggu dan tidak terbentuk produk (Femi-ola & Bamidele, 2012) serta dapat menyebabkan ikatan disulfida terputus dan enzim terdenaturasi (Padilha, *et al.*, 2014). Perbedaan hasil ditunjukkan pada penambahan ion Al³⁺ (Gambar 2, Tabel 1) yaitu meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase secara bermakna (*One Way* ANOVA, $\alpha = 95\%$, $p < 0.05$). Dengan demikian ion Al³⁺ berperan sebagai aktivator dan ion Cu²⁺ berperan sebagai inhibitor ekstrak kasar enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01.



Gambar 1. Kurva aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim selulase dengan penambahan ion Fe²⁺ dan Cu²⁺



Gambar 2. Kurva aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim selulase dengan penambahan ion Al³⁺

Gambar 2. Kurva standar BSA.

KESIMPULAN

Penambahan ion Fe²⁺ tidak mempengaruhi aktivitas ekstrak kasar enzim selulase. Namun penambahan ion Cu²⁺ dapat menurunkan aktivitas (inhibitor), sedangkan ion Al³⁺ merupakan aktivator dari ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariputri D.R. 2014. Identifikasi Isolat Bakteri Penghasil Enzim Selulase dari Limbah Ampas Tebu Berdasarkan Analisis Homologi Gen Penyandi 16S rRNA. Skripsi Sarjana Farmasi yang tidak terpublikasi pada Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Augsburger L. L., Hoag S. W. 2008. Pharmaceutical Granulation Processes, Mechanism, and the Use of Binders. New York: Taylor & Francis Group.
- Bansal N., Soni R., Janveja C., Soni S. K. 2012. Production of Xylanase-Cellulase Complex by *Bacillus subtilis* NS7 for The Biodegradation of Agro-Waste Residues. *Lignocellulose*. **Vol. 1(3)**: 196-209.
- Bhange V. P., William SPM. P., Sharma A., Gabhane J., Vaidya A. N., Wate S. R. 2015. Pretreatment of Garden Biomass Using Fenton's Reagent: Influence of Fe^{2+} and H_2O_2 Concentrations on Lignocellulose Degradation. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*.
- Femi-Ola T. O., Bamidele O. S. 2012. Studies on The Catalytic Properties of Partially Purified Alkaline Protease From Some Selected Microorganisms. *Malaysian Journal of Microbiology*. **Vol. 8(3)**: 191-196.
- Hartanti L., Susanto F., Utami C. P., Sukarti E., Setiawan H. K., Ervina M. 2014. Screening And Isolation of Cellulolytic Bacteria from Bagasse and Characterization of The Cellulase Produced. In Proceedings of International Protein Society Seminar, University of Jember, Jember 29-30 Oktober 2014.
- Narasimhan A., Bist D., Suresh S., Shivakumar S. 2013. Optimization of Mycolytic Enzyme (Chitinase, β 1,3-Glucanase and Cellulase) Production by *Bacillus subtilis*, a Potential Biocontrol Agent Using One-Factor Approach. *Journal of Scientific & Industrial Research*. **Vol.72**: 172-178.
- Padilha I. Q. M., Carvalho L. C. T., Dias P. V. S., Grisi T. C. S. L., Honorato da Silva F. L., Santos S. F. M., Araujo D. A.M. 2015. Production And Characterization of Thermophilic Carboxymethyl Cellulase Synthesized by *Bacillus* sp. Growing on Sugarcane Bagasse in Submerged Fermentation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. **Vol.32(1)**:35-42.
- Rawat R., Tewari L. 2012. Purification and Characterization of an Acido thermophilic Cellulase Enzyme Produced by *Bacillus subtilis* Strain LSF3. *Extremophile: Microbial Life Under Extreme Condition*. **Vol. 4**.
- Shanmugapriya K., Saravana P. S., Krishnapriya, Manoharan M., Mythili A., Joseph S. 2012. Isolation, Screening and Partial Purification of Cellulase From Cellulase Producing Bacteria. *International Journal of Advance Biotechnology and Research*. **Vol.3(1)**: 509-514.
- Susanto F. 2012. Skrining Dan Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Selulase dari Limbah Ampas Tebu. Skripsi Sarjana Farmasi yang tidak terpublikasi pada Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Utami C. P. 2015. Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Selulolitik (*Bacillus subtilis* strain SF01) Asal Limbah Ampas Tebu. Skripsi Sarjana Farmasi yang tidak terpublikasi pada Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Xiao P., Yao S., Rehman R., Kang R., Wang Y. 2014. A Fibrinolytic Enzyme Produced by *Bacillus subtilis* Using Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as Substrate. *Advance Journal of Food Science and Technology*. **Vol.6(12)**:1294-1300.

(+)- α -Viniferin, Suatu Trimer Stilben Dari Kulit Batang *Shorea leprosula* Miq

I N.A. Winata¹⁾, Y.M. Syah²⁾, S.A. Achmad²⁾, E.H. Hakim²⁾, L.D. Dewi²⁾

¹⁾Jurusan Kimia, FMIPA, Univertas Jember

²⁾Kelompok Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia, FMIPA, ITB

Email : adi.winata87@yahoo.com

ABSTRAK

(+)- α -viniferin, suatu trimer stilben telah berhasil diisolasi dari kulit batang *Shorea leprosula* Miq. Ekstraksi dan isolasi senyawa ini dilakukan dengan metode maserasi, fraksinasi dan pemurnian dengan berbagai teknik kromatografi. Sementara penentuan strukturnya dilakukan dengan cara spektroskopi UV dan IR, serta dengan membandingkan data spektroskopinya dengan data yang telah dilaporkan.

PENDAHULUAN

Dipterocarpaceae adalah salah satu famili tumbuhan yang besar dengan nilai ekonomi yang penting. Kelompok tumbuhan ini terdiri dari 16 genus dan 600 spesies, serta terdistribusi di daerah hutan hujan tropis Afrika, Amerika Selatan, dan Asia. Indonesia memiliki 9 genus Dipterocarpaceae, yaitu *Hopea*, *Anisoptera*, *Cotylelobium*, *Shorea*, *Dipterocarpus*, *Vatica*, *Dryobalanops*, *Parashorea*, dan *Upuna* yang penyebarannya meliputi hutan Sumatera sampai Papua. Genus *Shorea* merupakan genus terbesar dengan jumlah sekitar 53 spesies di Pulau Sumatera, 141 spesies di Kalimantan, dan 4 spesies di Pulau Jawa sampai dengan Papua.^{1,2}

Shorea merupakan salah satu genus tumbuhan dalam famili Dipterocarpaceae. Tumbuhan yang dikenal sebagai tumbuhan jenis “meranti” ini merupakan salah satu tumbuhan ekonomi yang penting karena kayunya digunakan sebagai bahan bangunan, perabotan rumah tangga, dan industri kertas. Damar dan minyak meranti banyak digunakan dalam industri makanan, sabun, obat-obatan, dan kosmetika.^{1,3} Dari sudut pandang kimia, tumbuhan *Shorea*, juga termasuk genus yang lain dalam famili Dipterocarpaceae, dikenal sebagai sumber senyawa stilbenoid disamping senyawa terpenoid dan polifenol lainnya.^{3,4}

Senyawa stilbenoid adalah kelompok senyawa fenolik yang tersusun oleh unit (monomer) yang disebut resveratrol (stilben). Kelompok senyawa ini telah banyak diteliti dan diketahui mempunyai berbagai aktivitas biologis, seperti menghambat pelepasan histamin,⁵ anti-hipertensi,⁶ anti-inflammasi,⁷ anti-hepatotoksik,⁸ anti-tumor,⁹ anti-jamur,¹⁰ dan anti-bakteri.¹¹

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian mengenai kandungan senyawa stilbenoid dari tumbuhan *Shorea* sangat menarik untuk diteruskan. Hasil penelusuran literatur juga menunjukkan bahwa masih banyak spesies tumbuhan ini yang belum diteliti, salah satunya adalah *Shorea leprosula* Miq.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan tumbuhan, bahan kimia padat dan pelarut untuk proses ekstraksi, kromatografi, dan pemurnian, serta bahan-bahan untuk pengujian senyawa-senyawa kimia yang ditemukan. Sedangkan peralatan yang digunakan meliputi peralatan gelas dan peralatan pendukung untuk proses pemisahan, pemurnian, dan pengujian senyawa yang ditemukan.

Pengumpulan dan Penyiapan Bahan Tumbuhan.

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah kulit batang *Shorea leprosula* Miq. yang dikumpulkan dari kebun percobaan Departemen Kehutanan dan Perkebunan, Darmaga, Bogor, pada bulan Juni 2001. Untuk konfirmasi keabsahan sampel, spesimen tumbuhan diperiksa di Herbarium Bogoriense, Balai Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI di Bogor. Kulit batang *S. leprosula* Miq. yang telah dikumpulkan, dicuci dengan air, dipotong kecil-kecil, dijemur sampai kering, kemudian dihaluskan dengan mesin penggiling.

Bahan Kimia dan Pelarut yang Digunakan

Bahan kimia padat yang digunakan sebagai fasa diam pada proses kromatografi adalah silika gel Merck G₆₀ 70-230 mesh, silika gel Merck G₆₀ 230-400 mesh, dan silika gel GF₂₅₄. Untuk memonitor hasil kromatografi digunakan pelat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ dan penampak noda larutan Ce₂(SO₄)₃ encer dalam H₂SO₄ 15 %.

Pelarut yang digunakan untuk keperluan ekstraksi dan kromatografi adalah aseton, heksan, benzen, kloroform, etil-asetat, metanol dan metilen klorida dengan kualitas teknis yang telah didestilasi. Untuk keperluan kristalisasi dan pengukuran spektrum UV digunakan pelarut berkualitas pro analisis.

Peralatan Yang Digunakan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas dan peralatan pendukung. Peralatan

gelas yang digunakan adalah peralatan gelas yang lazim digunakan dalam percobaan kimia organik, sedangkan peralatan pendukung yang digunakan adalah alat penetapan titik leleh mikro Fisher John, Spektrum UV Varian Cary 100 Conc., spektrofotometer FTIR ONE Perkin Elmer.

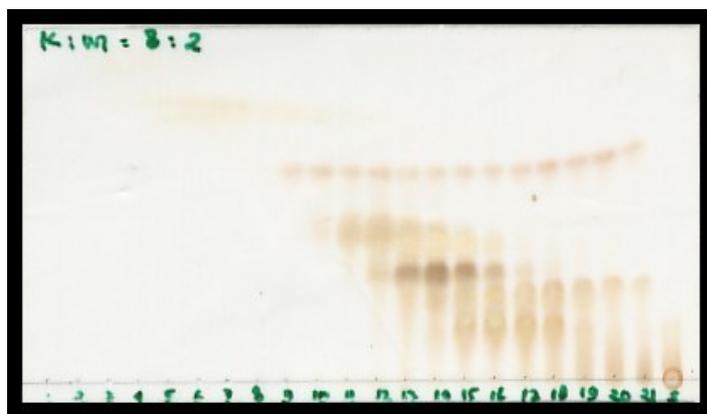
Isolasi (+)- α -viniferin dari Kulit Batang *S. leprosula* Miq.

Sebanyak 7 kg serbuk kulit batang *S. leprosula* Miq. dimaserasi dengan aseton selama 24 jam. Ekstrak aseton cair berwarna ungu kecoklatan diperoleh dengan cara penyaringan. Maserasi dengan aseton diulangi sampai 4 kali agar kandungan kimia dalam kulit batang terekstraksi semaksimal mungkin, dan proses ini dimonitor dengan KLT. Ekstrak aseton digabung, kemudian dipekatkan dengan evaporator, menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat sebanyak 259,2 gram. Ekstrak aseton yang telah dipekatkan, dilarutkan dalam 100 ml metanol, kemudian dipartisi dengan 4 x 200 *n*-heksana. Hasil yang diperoleh untuk fraksi metanol dan fraksi *n*-heksan berturut-turut adalah 225,2 dan 28,3 gram. Fraksi metanol dilarutkan dengan 100 ml aseton kemudian ditambahkan 1 L dietileter. Fraksi terlarut dalam aseton-dietileter dipisahkan dengan penyaringan, kemudian dipekatkan dengan evaporator. Kromatografi vakum cair terhadap 70 gram ekstrak aseton-dietileter dilakukan secara bertahap, masing-masing sekitar 15–20 gram menggunakan silika gel G₆₀ GF₂₅₄ sebagai fasa diam dan eluen campuran etil-asetat-*n*-heksana, etil-asetat, etil-asetat-metanol, dan metanol. Berdasarkan hasil monitor dengan KLT (Gambar 1), 22 fraksi yang diperoleh dapat digabung menjadi 5 fraksi gabungan dengan jumlah berturut-turut adalah A = 2.645 mg, B = 838 mg, C = 1.109 mg, D = 13.653 mg, dan E = 6.167 mg.

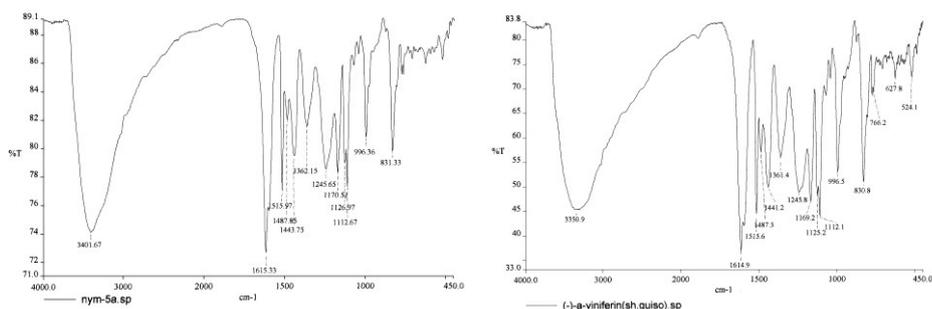
Fraksinasi lebih lanjut terhadap fraksi D dengan KVC menggunakan eluen campuran etilasetat-*n*-heksana-metanol, menghasilkan empat fraksi gabungan. Fraksi gabungan kedua sebanyak 1479 mg, difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi radial dan kromatografi kolom tekan menggunakan eluen metanol-kloroform (5-10%), menghasilkan tiga fraksi gabungan. Fraksi gabungan kedua difraksinasi dengan kromatografi radial menggunakan eluen etilasetat-*n*-heksana (40-50%) menghasilkan empat fraksi gabungan. Fraksi gabungan keempat dimurnikan dengan kromatografi permeasi gel sephadex LH-20 dengan eluen metanol menghasilkan serbuk kuning kecoklatan. Rekrystalisasi dengan aseton-kloroform memberikan serbuk kuning sebanyak 119 mg dengan titik leleh 235 °C (terurai) dan $[\alpha]_D^{20} + 58^0$ (c 0,1 MeOH). Spektrum UV (MeOH) λ_{maks} (log ϵ): 226 (sh 4.96), 285 (4.28) nm, (MeOH+ NaOH) λ_{maks} (log ϵ): 248 (sh 4.73), 292 (4.32) nm. IR (ν_{maks} , KBr): 3401, 1615, 1515, 1443, 1362, 1245, 1170, 1112, 996, 831 cm^{-1} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

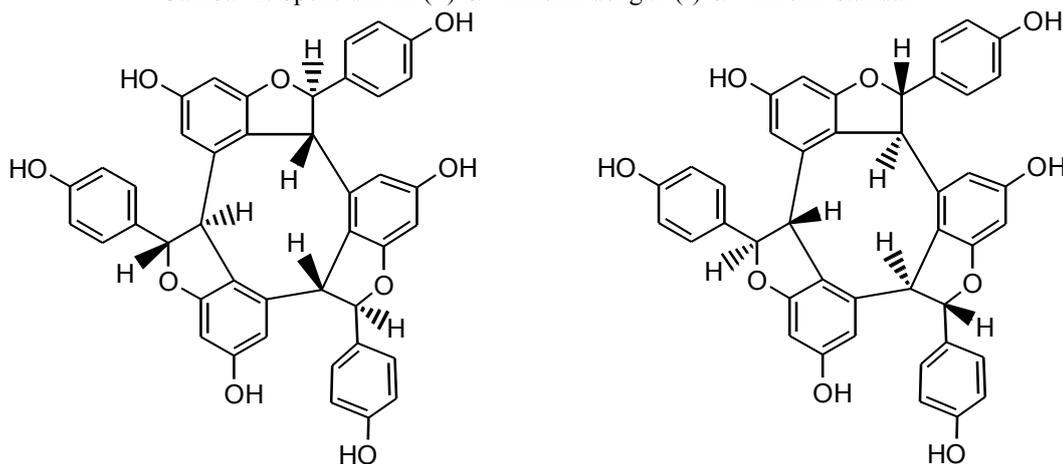
(+)- α -viniferin diperoleh berupa serbuk kuning sebanyak 119 mg dengan titik leleh 235 °C (terurai) dan $[\alpha]_D^{20} + 58^0$ (c 0,1 MeOH). Spektrum UV dalam pelarut metanol menunjukkan serapan pada λ_{maks} 285 nm, dan tidak mengalami pergeseran batokromik dengan penambahan NaOH, mengisyaratkan adanya kromofor fenolik yang tidak terkonjugasi. Dugaan adanya gugus fenol juga didukung oleh spektrum IR (KBr) yang menunjukkan adanya serapan gugus -OH pada ν_{maks} 3401 cm^{-1} , C=C aromatik pada ν_{maks} 1615 dan 1515 cm^{-1} , serta cincin 1,4-disubstitusi benzen pada ν_{maks} 831 cm^{-1} .



Gambar 1. Kromatogram hasil KVC fraksi aseton-dietileter



Gambar 2. Spektrum IR (+)- α -viniferin dengan (-)- α -viniferin standar



Gambar 3. Struktur molekul (+)- α -Viniferin dan (-)- α -viniferin standar

Spektrum IR senyawa ini identik dengan spektrum IR (-)- α -viniferin standar dengan derajat kesesuaian 99,1 % (Gambar 2). Uji kromatografi lapis tipis dengan tiga sistem eluen yang berbeda juga menunjukkan harga R_f yang sama, masing-masing 0,5 pada eluen kloroform-metanol (8:2), 0,5 pada eluen kloroform-aseton (1:1), dan 0,2 pada eluen metilenklorida-metanol (9:1). Data fisik yang membedakan antara kedua senyawa ini adalah harga absolut putaran optik, dimana senyawa hasil isolasi mempunyai $[\alpha]_D^{20} + 58^0$, sedangkan (-)- α -viniferin standar mempunyai $[\alpha]_D^{20} - 58^0$ pada konsentrasi dan pelarut yang sama (c 0,1 MeOH). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah (+)- α -viniferin yang merupakan enantiomer dari (-)- α -viniferin. Hasil penelusuran literatur juga menunjukkan bahwa kedua senyawa ini tidak dapat dibedakan dengan spektrum ¹H dan ¹³C NMR.⁷

KESIMPULAN

Penelitian ini telah berhasil mengisolasi (+)- α -viniferin, suatu trimer stilben yang cukup aktif terhadap benur udang (*Artemia salina*) dengan LC₅₀ 47,7 μ g/ml.

DAFTAR PUSTAKA

Heyne, K., (1986), "Tumbuhan Berguna Indonesia vol II", Balai Kehutanan Indonesia, Departemen Kehutanan, Jakarta, 1420

- Newman, M.F., Burges, P.F., and Whitmore, T.C., (1999), "Pedoman Identifikasi Pohon Dipterocarpaceae Pulau Kalimantan", Prosea Indonesia, Bogor.
- Cronquist, A., (1981), "An Integrated System of Classification of Flowering Plant", Columbia Univ. Press, New York, 317-318.
- Sotheeswaran, S. and Pasupathy, V., (1993), "Distribution of Resveratrol Oligomer in Plants", *Phytochemistry*, 32(5), 1083-1092.
- Seo, E.K., et al., (1999), "Resveratrol Tetramers from *Vatica diospyroides*", *J.Org.Chem.*, 64, 6976-6983.
- Inamori, Y., et al., (1991), "The Inhibitory Effect of 3,3',4,5'-tetrahydroxystilbene, A Constituent of *Cassia garrettiana*, on Anti-IgE-Induced Histamine Release from Human Basophils in vitro", *Chem.Pharm.Bull.*, 39, 805-807.
- Kitanaka, S., et al., (1990), "(+)- α -viniferin, an Anti-inflammatory Compound from *Caragana chamlagu* Root", *Chem.Pharm.Bull.*, 38, 432-435.
- Ono, M., et al., (1995), "Four New Glycosides of Stilbene Trimer from *Foeniculi Fructus* (Fruit of *Foeniculum vulgare* Miller)", *Chem. Pharm. Bull.*, 43(5), 868-871.
- Oshima, Y., et al., (1993), "Ampelopsins F and G, Novel Bridged Plant Oligostilbenes from *Ampelopsis brevipedunculata* var. *hancei* Roots (Vitaceae)", *Tetrahedron*, 49(26), 5801-5804.

- Pryce, R.J. and Langcake, P., (1977), “ α -viniferin: An Antifungal Resveratrol Trimer from Grapevines” *Phytochemistry*, 16, 1452-1454.
- Sultanbawa, M.U.S., Surendrakumar, S., and Bladon, P., (1987), “Distichol, An Antibacterial Polyphenol from *Shorea distica*”, *Phytochemistry*, 26(3), 799-801.
- Ito, T., et.al., 2000, “Stilbenoids Isolated from Stem Bark of *Shorea hemsleyana*”, *Chem. Pharm. Bull.*, 48(7), 1001-1005.
- Sung, S.H., et.al., (2002), “(+)- α -viniferin, a stilbene trimer from *Caragana chamlague*, inhibits Acetylcholinesterase”, *Biol. Pharm. Bull.*, 25(1), 125-127.

Studi Kadar Kurkumin Hasil Fermentasi Kunyit (*Curcuma longa*) Dengan EM4 Menggunakan Metode KLT-Densitometri

Putu Irwan Yasa, I Nyoman Adi Winata*, Ika Oktavianawati

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember
E-mail: chomank_adi@yahoo.com

ABSTRAK

Kurkumin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan nafsu makan ternak. Senyawa kurkumin dapat ditemukan pada rimpang kunyit (*Curcuma longa*). Para peternak memanfaatkan rimpang kunyit sebagai bahan utama dalam pembuatan jamu ternak. Salah satu pembuatan jamu ternak adalah melalui proses fermentasi menggunakan EM4. Proses fermentasi tersebut dilakukan selama 7 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fermentasi dengan menggunakan EM4 terhadap kadar kurkumin pada rimpang kunyit. Ekstrak kunyit dievaporasi untuk memperoleh rendemen kurkumin dalam jamu ternak. Rendemen dielusi dengan yang digunakan eluen kloroform:etanol:asam asetat glasial (95:5:1). Kadar kurkumin dalam jamu ternak dapat diketahui dengan menggunakan metode KLT-densitometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar kurkumin yang diperoleh dari hasil fermentasi adalah lebih banyak dibandingkan ekstrak kunyit tanpa proses fermentasi.

Kata Kunci: Jamu ternak, kurkumin, EM4.

PENDAHULUAN

Peternak merupakan salah satu pekerjaan yang banyak dipilih masyarakat Indonesia. Peternak merupakan usaha yang terbilang gampang-gampang susah (Sarwoto, 2004). Peternak harus berusaha lebih untuk menghasilkan kualitas ternak yang baik. Salah satu usahanya adalah dengan pemberian jamu kepada ternak (Zainuddin, 2002).

Jamu ternak merupakan suplemen nabati yang bermanfaat bagi ternak. Bahan jamu untuk ternak dibuat dari satu jenis atau beberapa jenis tanaman obat antara lain kunyit, lengkuas, jahe, temulawak, kencur dan lainnya. Jamu dapat dibuat dengan berbagai cara, salah satunya adalah melalui proses fermentasi EM4 (Zainuddin, 2002). EM4 (kumpulan mikroorganisme efektif) terdiri atas bakteri asam laktat, Actinomycetes, bakteri fotosintetik, dan ragi (Higa dan Wididana, 1991). Menurut Aryogi et al (1999), kumpulan mikrobia pada EM4 memiliki kemampuan lipolytic, lignolytic, cellulolytic, dan proteolytic yang berguna untuk menguraikan senyawa organik kompleks.

Kunyit sebagai bahan dasar pembuatan jamu ternak memiliki banyak manfaat. Menurut Agastiana (1996), pemberian kunyit dapat meningkatkan bobot badan, serta menurunkan lemak. Senyawa yang berperan dalam hal ini adalah senyawa kurkumin. Menurut Purwanti (2008), senyawa kurkumin mampu memperlancar pengeluaran empedu sehingga meningkatkan aktivitas saluran pencernaan.

Senyawa kurkumin banyak ditemukan pada akar atau umbi (rimpang) tanaman *Curcuma sp.* (Syukur dan Hernani, 2001). Senyawa yang sangat bermanfaat pada tanaman kunyit salah satunya adalah senyawa kurkumin [1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-

dion]. Di alam, senyawa kurkumin terdapat dalam bentuk tautomernya berupa keto dan enol. Namun karena kestabilan keto lebih baik dibanding enol, maka membuat jumlah keto di alam lebih banyak dibandingkan bentuk enolnya. Ohshiro *et al.* (1990) menyebutkan bahwa selain kurkuminoid, hasil ekstraksi rimpang kunyit dengan MeOH menghasilkan senyawa kimia minor seperti (4S,5S)-germakron-4,5-epoksida, bisabola-3,10-diena-2-on, α -turmeron, bisakumol, bisakuron, kurkumenol, isoprokurkumenol, zedoaronediol, prokurkumenol, epiprokurkumenol, germakron-13-al, 4-hidroksi-bisabola-2,10-diena-9-on, 4,5-dihidroksibisabola-2,10-diena, 4-metoksi-5-hidroksibisabola-2,10-diena-9-on, 2,5-dihidroksibisabola-3,10-diena, dan prokurkumadiol.

Penelitian mengenai Ekstraksi kurkumin pada kunyit telah banyak dilakukan, diantaranya Oshiro *et al.* (1990) yang telah mengekstraksi kunyit untuk melihat kandungannya. Penelitian ilmiah yang menganalisa kandungan kurkumin pada kunyit hasil fermentasi menggunakan EM4 belum pernah dilakukan. Hal tersebut yang menjadi dasar untuk penelitian mengenai "Studi Kadar Kurkumin Hasil Fermentasi Kunyit (*Curcuma longa*) dengan EM4 Menggunakan Metode KLT-Densitometri.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, erlenmeyer 250 mL, gelas beaker 250 mL, pematut, saringan teh, timbangan analitik, botol semprot, corong gelas, pipet mohr, pipet volum 10 mL dan 50 mL, gelas beaker, kaca arloji, pipet tetes, ball pipet, pengaduk, corong pisah, chamber, rotary

evaporator, hair dryer, labu ukur 5 mL, botol vial, pipa kapiler, densitometer CAMAG, pipet mikro.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit, akuades, EM4, kloroform p.a, asam asetat glasial, aseton, plat KLT silika gel 254, kertas saring, kurkumin (merck), etanol.

Preparasi Sampel

Rimpang kunyit dikupas dan dicuci bersih. Rimpang kunyit diparut hingga dan disimpan hasil parutan sebagai simplisia.

Fermentasi

Simplisia ditimbang sebanyak 50 gram lalu ditambahkan EM4 sebanyak 10 mL. Campuran kemudian diaduk hingga merata. Sampel kemudian diencerkan dengan menambahkan akuades hingga 100 mL. Sampel kemudian diaduk hingga merata. Sampel selanjutnya difermentasikan selama 7 hari dalam erlenmeyer dan ditutup. Sampel hasil fermentasi disaring. Sampel hasil penyaringan diekstraksi dengan kloroform. Sampel diekstraksi dengan 50 mL kloroform menggunakan corong pisah sebanyak empat kali untuk memperoleh filtrat 1. Filtrat 1 selanjutnya dievaporasi hingga memperoleh padatan kering. Hal yang sama dilakukan tanpa proses fermentasi dengan pelarut air (kontrol 1) dan pelarut kloroform (kontrol2).

Pembuatan Larutan Standar Kurkumin

Kurkumin standar ditimbang sebanyak 2 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 5 mL menggunakan aseton. Kurkumin standar yang dihasilkan diambil 5,0; 6,0; 8,0; 10,0 µl untuk ditotolkan ke atas plat KLT.

Pengujian dengan KLT-Densitometer

Sampel hasil evaporasi dilarutkan dengan menggunakan pelarut aseton pada labu ukur 5 ml. Penotolan sebanyak 10 µl dilakukan secara bertahap menggunakan pipa kapiler dengan jarak penotolan pada plat KLT 1 cm dari batas bawah plat, 1 cm dari samping kanan dan kiri, dan jarak antar titik masing-masing 1 cm. Plat KLT dielusi dengan menggunakan campuran kloroform:etanol:asam asetat glasial (94:5:1) dalam bejana (Chamber). Elusi dilakukan sampai tanda batas. Plat diangkat dan diangin-anginkan. Noda hasil elusi dihitung nilai Rf-nya (Retention Factor). Hasil KLT dianalisis lebih lanjut dengan densitometer dengan panjang gelombang 420 nm. Hal yang sama dilakukan untuk kontrol 1, kontrol 2, dan 4 macam larutan standar yang berbeda konsentrasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Kunyit Hasil Evaporasi

Rendemen ekstrak kunyit dihitung berdasarkan perbandingan antara berat kunyit sebelum fermentasi dengan berat ekstrak hasil evaporasi. Hasil yang

diperoleh dalam bentuk nilai persentase. Hasil perhitungan ditunjukkan pada tabel 1.

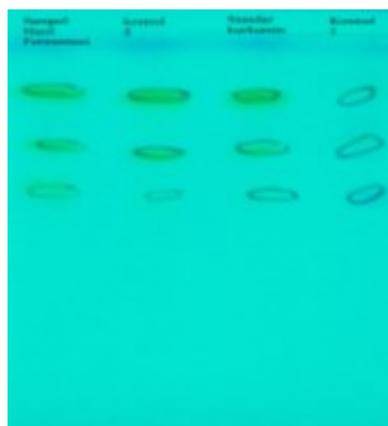
Kemiripan kepolaran pelarut membuat kontrol 2 memiliki hasil rendemen yang besar. Pada sampel dan kontrol 1 yang dilarutkan dengan senyawa polar hasilnya tidak sebesar dari kontrol 2. rendemen dari sampel lebih besar dibandingkan kontrol 1 yang menggunakan pelarut yang sama. Hal ini disebabkan pada proses fermentasi menggunakan EM4, enzim yang dihasilkan oleh bakteri mengakibatkan senyawa kurkumin lebih mudah terekstrak.

Tabel 1. Rendemen ekstrak kurkumin pada kunyit

Uraian	Rendemen (%)
Sampel	0,08
Kontrol 1	0,02
Kontrol 2	1,7

Kromatogram KLT

Hasil elusi dengan menggunakan fase gerak kloroform:etanol:asam asetat glasial (95:5:1). Fase gerak yang bersifat nonpolar membawa senyawa kurkumin terpisah dan memiliki Rf untuk kurkumin hasil fermentasi 0,74, tanpa fermentasi 0,80, hasil ekstraksi dengan kloroform 0,73. Hal ini sesuai dengan nilai dari Rf standar kurkumin sebesar 0,73. Interaksi antara kurkumin dengan eluen yang lebih bersifat nonpolar lebih kuat dibandingkan dengan fase diamnya. Meskipun terdapat interaksi berupa ikatan hidrogen, tetapi karena interaksi dengan eluen lebih kuat membuat sehingga diperoleh pemisahan yang baik antara senyawa kurkumin dengan senyawa lainnya.

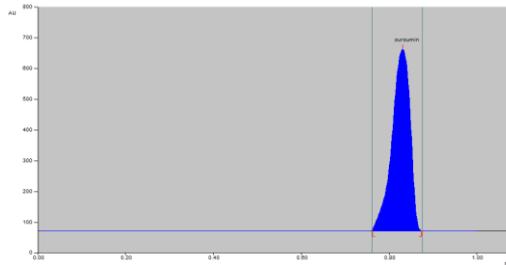


Gambar 1. Kromatogram ekstrak kunyit

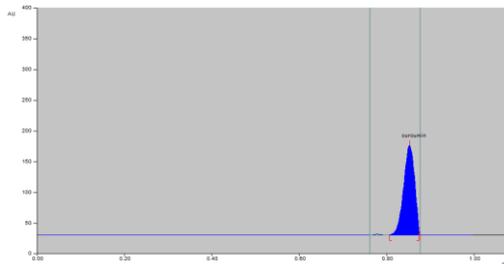
Jumlah spot yang dihasilkan pada ekstrak kunyit hasil fermentasi, kontrol 1, dan kontrol 2 sama. Jumlah spot dan nilai Rf yang sama menunjukkan senyawa yang terekstrak adalah sama. Sampel hasil fermentasi menunjukkan spot kurkumin yang lebih tebal dibandingkan kontrol 1.

Densitogram densitometer

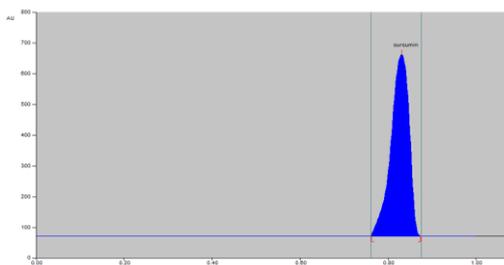
Hasil luas area yang diperoleh menunjukkan luas area pada ekstrak kunyit hasil fermentasi menunjukkan hasil yang lebih besar dibandingkan kontrol 1 yang merupakan ekstrak kunyit tanpa fermentasi. Enzim yang menghidrolisis senyawa polimer pada kunyit membuat kurkumin lebih mudah terekstrak dan menghasilkan kandungan kurkumin yang lebih banyak.



Gambar 2. Densitogram ekstrak kunyit hasil fermentasi



Gambar 3. Densitogram kontrol 1



Gambar 4. Densitogram kontrol 2

KESIMPULAN

Kandungan kurkumin yang diperoleh dengan menggunakan EM4 lebih besar dengan luas area 18975 dibandingkan kandungan kurkumin tanpa proses fermentasi dengan EM4 dengan luas area 3602.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiana. 1996. Pengaruh Pemberian Tepung Kunyit dalam Ransum Ayam Broiler terhadap Kadar air, pH dan total bakteri liter. F. Semarang: Peternakan UNDIP.
- Higa, T. and G. N. Wididana. 1991. Changes in soil microflora induced by effective microorganisms. p. 153 – 163. In J.F. Parr, S.B. Hornick and E.C. Whitman (ed.) Proceedings of the first International Conference on Kuysei nature Farming, United States Department of Agriculture, Washington D.C. USA.
- Ohshiro, M., Kuroyanagi M, etal. 1990. Structures of Sesquiterpenes from *Curcuma longa*. *Phytochem.* 29(7): 2201-2206.
- Purwanti. 2008. Kajian Efektifitas Pemberian Kunyit, Bawang Putih dan Mineral Zink terhadap Performa, Kadar Lemak, Kolesterol dan Status Kesehatan Broiler. [Tesis Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor]
- Sarwoto. 2005. Dasar-dasar Organisasi dan Manajemen. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Syukur, C, dan Hernani, 2001, Budidaya Tanaman Obat Komersial. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Zainuddin, D dan E. Wakrahardjo. 2002. Racikan Ramuan Tanaman Obat dalam Bentuk Larutan Jamu dapat Mempertahankan dan Meningkatkan Kesehatan serta Produktivitas Ternak Ayam Buras. Prosiding Bogor: Seminar Nasional XIX Tumbuhan Obat Indonesia. Kerjasama POKJANAS Tumbuhan Obat Indonesia dengan Puslit Perkebunan.

Pengaruh Beberapa Senyawa Denaturan Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Dari *Bacillus Subtilis* SF01 Asal Limbah Ampas Tebu

Kristian Adi S., Emi Sukarti, Henry KurniaSetiawan, Lanny Hartanti^{*)}

Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya
*Email: lanny.hartanti@ukwms.ac.id; lanny.hartanti@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh senyawa ammonium sulfat, sodium azida, dan urea terhadap aktivitas selulase dari *Bacillus subtilis* SF01. Selulase diproduksi melalui fermentasi dalam media NB + CMC 1% selama 21 jam. Kadar protein dalam ekstrak kasar enzim ditentukan dengan metode Bradford dan perbandingan BSA. Aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0 dan 60°C. Gula pereduksi yang dihasilkan direaksikan dengan asam DNS dan diamati secara spektrofotometri pada 550 nm, dengan perbandingan glukosa. Pengaruh senyawa denaturan diuji dengan mencampur enzim dan larutan senyawa denaturan selama 20 menit, sebelum direaksikan dengan substrat. Hasil penelitian menunjukkan ketiga senyawa uji memberikan hasil peningkatan atau penurunan aktivitas spesifik enzim yang tidak bermakna secara statistik (one way ANOVA, $\alpha = 95\%$). Dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa denaturan tidak berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01.

Kata Kunci: selulase, *Bacillus subtilis* SF01, denaturan, sodium azida, urea, ammonium sulfat

PENDAHULUAN

Enzim Selulase bermanfaat di segala bidang industri, contohnya dalam pembuatan kertas (Richana 2002). Di bidang kesehatan adalah untuk mengatasi gangguan pencernaan manusia karena tidak mampu mencerna selulosa, berbeda dengan ruminansia yang memiliki mikroorganisme pencernaan selulosa. Enzim selulase dihasilkan oleh mikroorganisme yang memiliki aktivitas selulolitik. *Bacillus subtilis* SF01 diisolasi dari ampas tebu memiliki 99% kemiripan terhadap *Bacillus subtilis* dari bank bakteri dengan uji homologi gen penyandi 16S rRNA. Karena perbedaan 1% inilah dilakukan karakterisasi lanjutan mengenai enzim selulase yang dihasilkan (Ariputri 2014).

Senyawa-senyawa pemurnian dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Senyawa-senyawa seperti Ammonium Sulfat, Urea, dan Sodium Azide biasa digunakan dalam pemurnian enzim maupun protein. Ammonium sulfat digunakan dengan kadar sekitar 2M digunakan dalam pemurnian protein. Urea juga digunakan kurang sama dengan 8M untuk pemurnian protein. Sedangkan Sodium azide merupakan suatu anti mikroba suatu pemurnian protein dan inhibitor suatu enzim tertentu (Ahmed 2005).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolate bakteri *Bacillus subtilis* SF01 asal limbah ampas tebu (Suutanto, 2012). Media nutrient agar (Merck), media nutrient broth (Merck), carboxymethyl cellulose (Sigma), Glukosa Monohidrat (Sigma), K-Na-Tartrat, asam 3,5-dinitrosalisilat (Sigma), Fenol, Na₂SO₃, Asam Sitrat (Merck), Kalium Fosfat (Merck), Sodium Tetraborat, Tris, HCl, NaOH, Kaliumklorida, Ammonium sulfat (Merck), Urea (Merck), Sodium

azide (Merck), bovine serum albumin (Sigma), akuades, air steril kualitas I (resistivity 18,2 MΩ cm (mQ)).

Produksi enzim

Isolat *Bacillus subtilis* SF01 dari stok gliserol diambil 1 ose yang telah diremajakan sebanyak 3 kali pada media padat NA ke media cair NB + CMC 1% dishaker 150rpm pada 37°C ± 18-20 jam. Di pindahkan ke media produksi menjadi 1% inokulum dalam 100ml, shaker 150rpm pada 37°C, fermentasi 21 jam. Panen dengan sentrifuse dingin (4°C, 3000-3500rpm).

Pengujian Aktivitas

Blanko Substrat

Ambil 300µl Buffer Universal pH 5 (Putri 2014), ditambahkan 100µl Substrat (CMC 1%), inkubasi 60°C selama 45 menit, kemudian ambil 200µl tambahkan 1200µl reagen DNS. Panaskan pada air mendidih (100°C) selama 15 menit kemudian didinginkan di dalam air es selama 20 menit. Gunakan sebagai auto zero pada spektrofotometer pada 550nm.

Uji Blanko Denaturan (0 ppm)

Ambil 300µl Enzim tambahkan 100µl Buffer Universal pH 5 (Putri 2014), inkubasi 60°C selama 20 menit. Kemudian diambil 300µl ditambahkan 100µl substrat (CMC 1%), inkubasi 60°C selama 45 menit. Ambil 200µl tambahkan 1200µl reagen DNS, panaskan dalam air mendidih (100°C) selama 15 menit kemudian didinginkan di dalam air es selama 20 menit, amati absorbansi pada spektrofotometer pada 550 nm.

Uji Denaturan

Sama perlakuan dengan uji blanko denaturan dengan mengganti buffer dengan variasi konsentrasi denaturan. Ammonium sulfat (0,5; 0,75; 1; 1,25; dan 1,5M), Urea

(1; 2; 3; 4; dan 5M), dan Sodium Azide (0,005; 0,02; 0,05; 0,1; dan 0,5 %). Pengukuran aktivitas enzim menggunakan persamaan garis linear $y = a+bx$, dengan ketentuan, y = absorbansi, a = intercept, b = slope, x = kadar glukosa (ppm) dan perhitungan Aktivitas Enzim (Ayuningtyas, 2008)

= 95% uji tuckey, menunjukkan perbedaan bermakna dengan nilai signifikan sikurang dari 0,05.

Urea

Dari data grafik blangko denaturan memberikan aktivitas sebesar 0,202U/ml, ketika ditambahkan 1M aktivitas spesifik meningkat sebesar 0.205U/ml.

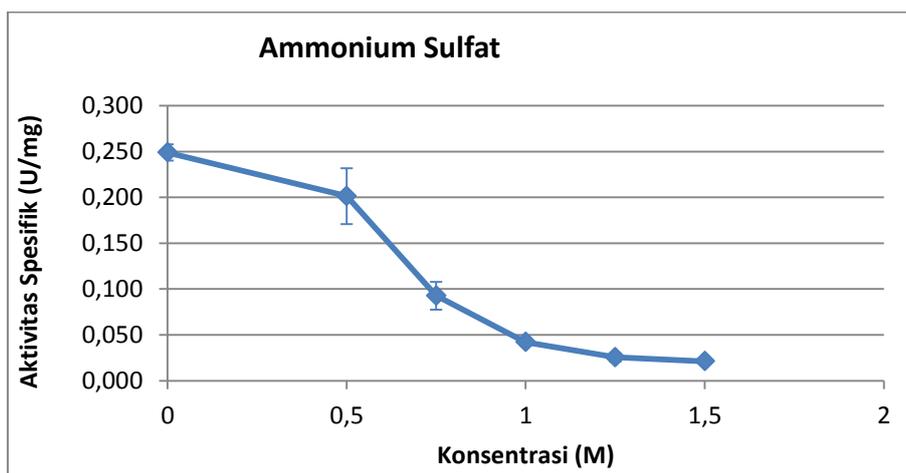
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ammonium sulfat

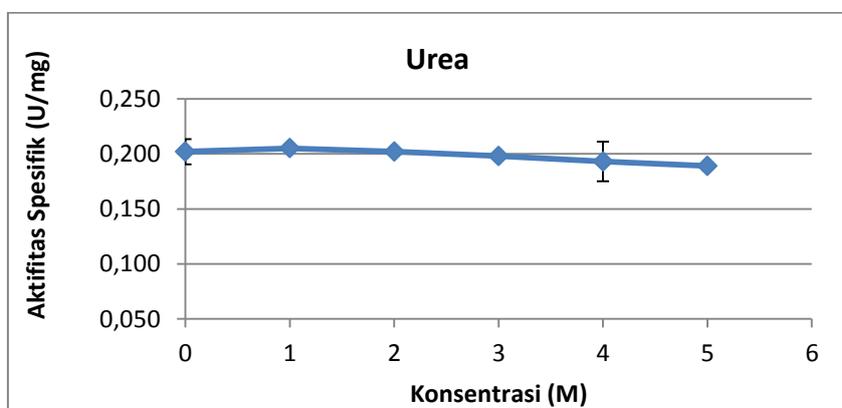
Berdasarkan data Gambar 1 didapat adanya penurunan aktivitas enzim di setiap penambahan konsentrasi yang diujikan. Pada blangko denaturan memberikan aktivitas spesifik sebesar 0,249U/ml, ketika ditambahkan 0,5M, aktivitas spesifiknya turun menjadi 0,201 U/ml. Penurunan drastic pada penambahan 0,75M, mengakibatkan aktivitas spesifik enzim menjadi 0,093U/ml. Pada penambahan 1,25M aktivitas spesifik enzim menjadi 0,026U/ml, dan pada penambahan 1.5M hamper membentuk kurva yang lurus dengan aktivitas spesifik 0,021U/ml. Pada uji statistik one way anova, α

Tabel 1. Pengaruh variasi konsentrasi ammonium sulfat terhadap aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 (n = 4)

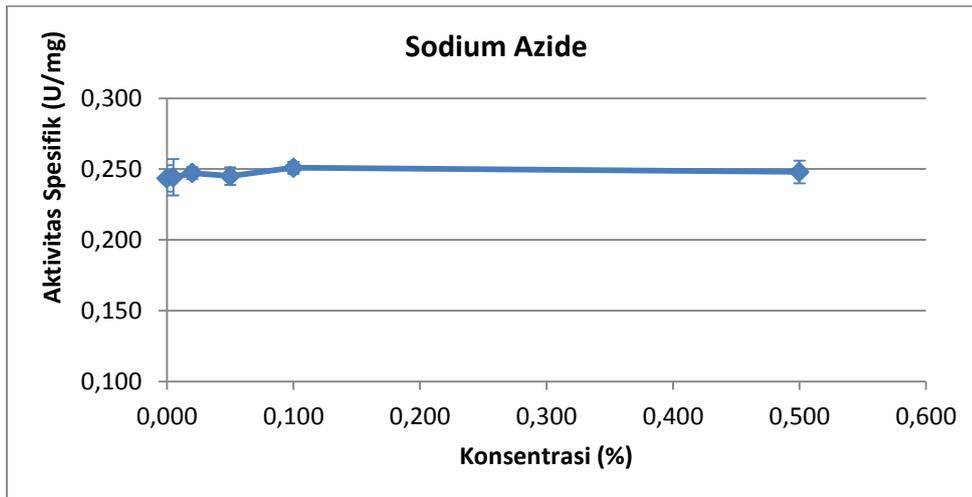
Konsentrasi (M)	Aktivitas Spesifik	SD
0	0.249	0.009
0.5	0.201	0.030
0.75	0.093	0.015
1	0.042	0.003
1.25	0.026	0.005
1.5	0.021	0.002



Gambar 1. Grafik pengaruh ammonium sulfat terhadap aktivitas spesifik enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 versus konsentrasi



Gambar 2. Grafik pengaruh urea terhadap aktivitas spesifik enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 versus konsentrasi



Gambar 3. Grafik pengaruh sodium azide terhadap aktivitas spesifik enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 versus konsentrasi

Tabel 2. Pengaruh variasi konsentrasi urea terhadap aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 (n = 4)

Konsentrasi (M)	Aktivitas Spesifik	SD
0	0.202	0.011
1	0.205	0.001
2	0.202	0.001
3	0.198	0.001
4	0.193	0.018
5	0.189	0.001

Kemudian penurunan beruntun pada penambahan 2M, 3M, 4M, dan 5M dengan aktivitas spesifik masing-masing sebesar 0,202; 0,198; 0,193; 0,189U/ml, namun uji statistik one way anova, $\alpha = 95\%$, uji tuckey, tidak memberikan perbedaan bermakna, karena nilai signifikansi lebih dari 0.05.

Sodium Azide

Data grafik menunjukkan bahwa blanko denauran memberikan aktivitas spesifik sebesar 0,243U/ml, kemudian meningkat menjadi 0,244U/ml pada penambahan 0,005%. Aktivitas spesifik meningkat lagi menjadi 0,247U/ml karena penambahan 0,02% Sodium Azide. Penurunan aktivitas terjadi pada penambahan 0,05% dengan aktivitas spesifik sebesar 0,245U/ml. Meningkat kembali dengan penambahan 0,1% dengan aktivitas spesifik sebesar 0,251U/ml dan kembali turun menjadi 0,248U/mg dengan penambahan Sodium azide sebesar 0,5%. Naik turunnya aktivitas spesifik ini dianggap tidak bermakna dengan uji statistik one way anova, $\alpha = 95\%$,

Dilanjutkan dengan uji tuckey dengan nilai signifikan sinyal lebih dari 0.05. Dikarenakan senyawa ini lebih digunakan sebagai anti mikroba dan inhibitor spesifik enzim horseradish peroxidase.

Tabel 3. Pengaruh variasi konsentrasi sodium azide terhadap aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 (n = 4)

Konsentrasi (%)	Aktivitas Spesifik	SD
0.000	0.243	0.009
0.005	0.244	0.013
0.020	0.247	0.004
0.050	0.245	0.006
0.100	0.251	0.004
0.500	0.248	0.008

KESIMPULAN

Studi sistem kultur terendam untuk kondisi pertumbuhan miselium maupun produksi eksopolisakarida (EPS) dari *T. fuciformis* hasilnya sangat baik. Produksi EPS pada sistem *airlift reactor* lebih tinggi dibandingkan dengan reaktor tank pengocok. Oleh karena itu secara morfologis hasil ini signifikan terhadap produksi ESP, dimana tingkat populasi sel khamir bentuk lonjong sangat berkorelasi dengan peningkatan produksi EPS. Meskipun demikian pengetahuan tentang fisiologi pertumbuhan *T. fuciformis* pada sistem kultur terendam masih dirasakan sangat terbatas.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed H.2005. Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification, and Characterization. USA: CRC PRESS
- Anonim.-. *Protein Purification-Handbook*.-: Amersham Biosciences

- Ariputri DR.2014. *Identifikasi Isolat Bakteri Penghasil Enzim dari Limbah Ampas Tebu Berdasarkan Analisis Homologi Gen Penyandi 16S rRNA.*
- Ayuningtyas O.2008.*Ekplorasi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Selulolitik Asal Rumen Sapi.* Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Airlangga Surabaya, halaman 21,27-29
- Putri C.2014.*Karakterisasi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Selulolitik Asal Limbah AmpasTebu*
- Richana N. 2002. *Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. Buletin AgroBio.5:29-36*
- Susanto F. 2012. *Skrining dan Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Selulase dari Limbah Tebu.*

Pengaruh *Platicizer* dalam Pembuatan Bioplastik dari Singkong Karet (*Manihot glazovii*)

Martha Aznury*, Sofiah, dan Riski Aryani

Teknik Kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang

*Email :martha_aznury@yahoo.com

ABSTRAK

Singkong karet (*Manihot glazovii*) merupakan tanaman yang mempunyai nilai ekonomi yang rendah karena adanya kadar HCN 0,08-1%. Sedangkan memiliki kadar karbohidrat sebesar 98,47%. Oleh karena itu singkong karet dapat dimanfaatkan sebagai bahan utama pembuatan bioplastik. *Plasticizer* yang digunakan pada penelitian ini berupa sorbitol. Penelitian ini juga menggunakan bahan lain berupa kitosan, asam asetat dan aquadest. Penambahan komposisi *plasticizer* dilakukan dari 20%, 30%, 40%, 50% dan 60% dari berat pati yaitu 5 gram. Hasil yang diperoleh berupa lembaran tipis plastik *biodegradable* yang telah diuji sifat mekaniknya. Didapatkan kondisi optimum untuk menghasilkan bioplastik adalah pada konsentrasi 50% sorbitol yang memiliki ketebalan 0,45 mm, % *elongitas* 1,95% dan kuat tarik sebesar 0,0050 Mpa.

Kata Kunci: Singkong karet, HCN, *Platicizer*, Bioplastik.

PENDAHULUAN

Pati adalah karbohidrat yang merupakan polimer alami diproduksi oleh tumbuhan jenis umbi-umbian, jagung dan beras. Pati dapat dimanfaatkan sebagai bahan utama dalam pembuatan kemasan baik itu kertas dan bioplastik dikarenakan paling efektif terdegradasi secara alami sangat cepat (Park,dkk., 2003).Kendala utama sebagai bahan dasar dalam pembuatan bioplastik dikarenakan sebagian besar bahan pati digunakan sebagai bahan pangan. Persaingan dalam penyediaan bahan dasar ini tentunya akan lebih diutamakan pada tingkatan penyediaan bahan pangan. Penelitian ini bertujuan memanfaatkan bahan pati dari umbi-umbian yang tidak dimanfaatkan karena tidak dapat dijadikan sebagai bahan pangan.

Salah satu pati yang dapat menjadi bahan dasar pembuatan bioplastik adalah singkong karet (*Manihot glazovii*) yang merupakan tanaman yang kurang dimanfaatkan dikarenakan racun HCN yang terdapat pada singkong karet tersebut. Singkong karet memiliki karbohidrat yang cukup tinggi. Oleh karena itu singkong karet dapat dimanfaatkan sebagai bahan utama pembuatan bioplastik karena karbohidrat pada singkong karet dapat diambil patinya.

METODE PENELITIAN

Persiapan Bahan Baku

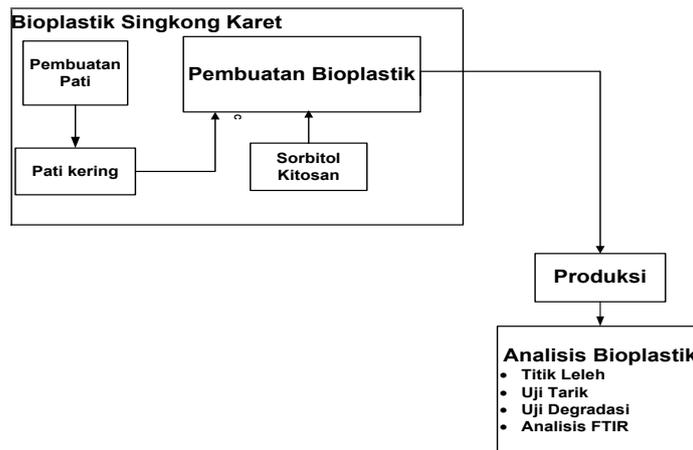
Proses pembuatan plastik dari singkong karet (*Manihot glazovii*) terdiri dari pembuatan pati singkong karet, pembuatan bioplastik, pencetakan, selanjutnya analisa. Analisa yang akan dilakukan yaitu analisa uji tarik, analisa ketebalan, dan analisa *biodegradasi*.

Pembuatan Pati Singkong Karet

Pembuatan pati singkong karet dilakukan dengan cara menyiapkan singkong karet sebanyak 4 kg. Kemudian mengupas singkong tersebut dan memarutnya. Setelah itu saring singkong karet yang telah diparut, dan mengendapkan pati singkong yang telah di dapat. Setelah endapan terpisah dengan air, kemudian pati dikeringkan menggunakan sinar matahari. Kemudian diayak untuk menghomogenkan ukuran pati, dan didapat pati singkong karet yang halus dan berwarna putih sebanyak 350 gram.

Pembuatan Bioplastik

Bahan yang digunakan dalam pembuatan bioplastik yaitu 5 gram pati singkong karet, *Plasticizer* yang berupa sorbitol mulai dari 20%, 30%, 40%, 50%, dan 60% dari berat pati singkong karet yang digunakan, asam asetat 1 ml, aquadest 99 ml dan juga kitosan sebanyak 1 gram.



Gambar 1. Diagram Alir produksi Bioplastik



Gambar 2. Alat Uji Tarik



Gambar 3. Jangka Sorong

perpanjangan bahan. Sifat mekanik ini diperoleh melalui percobaan uji tarik. Sifat mekanik suatu bahan dipengaruhi oleh sifat alami masing-masing dan kemampuan ikatan dalam senyawa penyusunnya.

Kekuatan tarik menunjukkan ukuran ketahanan bioplastik yaitu renggangan maksimal yang dapat diterima sampel, sedangkan persen pemanjangan (*elongitas*) merupakan perubahan panjang maksimum yang dialami plastik pada saat uji kuat tarik yaitu pada saat sampel sobek (Apriyanto, 2007). Adapun prosedur kerja dari uji kuat tarik dan persen pemanjangan menggunakan uji kuat tarik *Instrumen* yang ada di laboratorium polimer sebagai berikut:

1. Alat dihidupkan dengan menekan tombol ON.
2. Bioplastik dipersiapkan dengan ukuran yang telah ditentukan.
3. Salah satu sisi bioplastik dijepitkan pada penahan dibagian bawah lalu sisi yang lain pada bagian penarik di bagian bawah neraca.
4. Tombol up ditekan sehingga neraca akan menarik bioplastik dan menunjukkan gaya yang diberikan kepada bioplastik.
5. Pertambahan panjang diukur setelah bioplastik putus untuk mengetahui nilai persen pemanjangan.

Nilai kekuatan tarik dan perpanjangan (%Elongasi) diukur berdasarkan rumus:

$$\text{Kuat tarik} = \frac{F}{A}$$

Dimana:

F = gaya kuat tarik (kg/sec)

A = luas alas sampel (cm²)

$$\% \text{ elongasi} = \frac{L_1 - L_0}{L_0} \times 100\%$$

Dimana:

L₁ = panjang setelah putus (cm)

L₀ = panjang awal (cm)

Selanjutnya campurkan semua bahan yang telah disiapkan, masukkan semua bahan ke gelas kimia kemudian panaskan pada suhu 70°C dengan menggunakan *hot plate* dan seiring terus diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 250 rpm. Pengadukan dilakukan hingga menghasilkan larutan kental seperti lem.

Analisa Anaerobic

Analisa Bioplastik

Uji Tarik

Komposisi optimal plastik ditentukan berdasarkan sifat mekanik bahan terutama pada kekuatan tarik dan

Uji Biodegradasi

Uji biodegradabilitas dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan sampel film plastik sampai mengalami degradasi. Uji biodegradabilitas yang dipilih yaitu mengendalikan mikroorganisme tanah sebagai pembantu proses degradasi atau yang disebut dengan teknik *soil burial test* (Subowo dan Pujiastuti, 2003).

Uji biodegradasi digunakan untuk mengetahui kemampuan degradasi sampel bioplastik. Uji biodegradasi dilakukan dengan meletakkan plastik berukuran 2cm x 2cm ke dalam wadah yang berisi tanah bakar, air sungai, air laut, dan air steril. Pengamatan dilakukan dengan mengamati secara visual bioplastik tersebut, hingga berapa lama bioplastik tersebut terdegradasi.

Uji Ketebalan

Ketebalan bioplastik ditentukan dengan menggunakan alat pengukur ketebalan jangka sorong dengan ketelitian 0,005 mm. Pengukuran ketebalan dilakukan untuk mengetahui tebal dari suatu plastik yang telah dihasilkan.. Pertama-tama mengukur skala utama dari

bioplastik menggunakan jangka sorong, kemudian mengukur skala *varier* dari plastik tersebut. Dan kemudian menjumlahkan skala utama dan skala *varier*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentation Anaerobic

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pati dari singkong karet (*Manihot glazovii*). Penelitian dilakukan di Laboratorium Instrumentasi Pengukuran Teknik Kimia Politeknik Negeri Sriwijaya.

Pada penelitian ini pembuatan bioplastik dilakukan dengan memvariasikan komposisi pati dan sorbitol untuk mengetahui komposisi yang optimum yang digunakan dalam pembuatan bioplastik.

Pembuatan Bioplastik

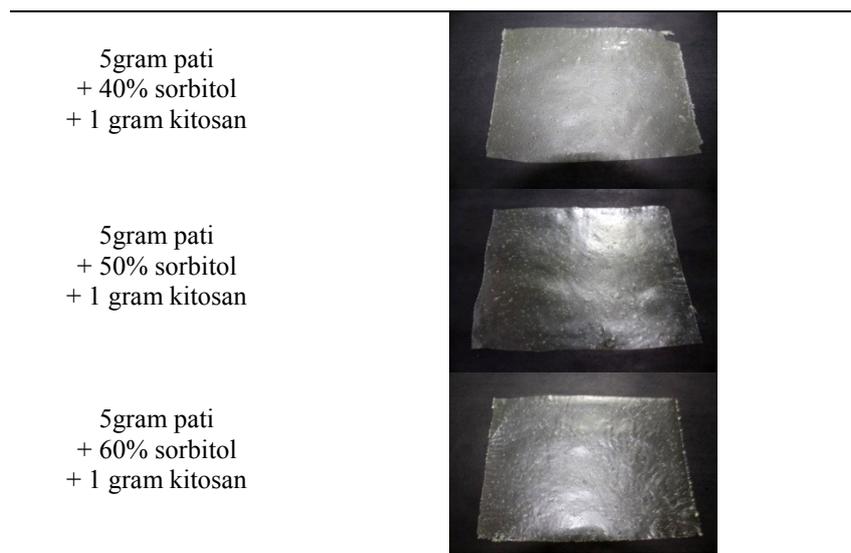
Pada penelitian ini, dilakukan terlebih dahulu pemisahan pati dari singkong karet. Singkong karet yang awalnya memiliki berat 4 kg kemudian dikupas, diparut dan diperas untuk dipisahkan dari patinya.

Tabel 1. Hasil Bioplastik Variasi Pati

Sampel	Gambar
5 gram pati + 40% sorbitol + 1 gram kitosan	
10 gram pati + 40% sorbitol + 1 gram kitosan	
15 gram pati + 40% sorbitol + 1 gram kitosan	

Tabel 2. Hasil Bioplastik Variasi *Plasticizer*

Sampel	Gambar
5gram pati + 20% sorbitol + 1 gram kitosan	
5gram pati + 30% sorbitol + 1 gram kitosan	



Tabel 3. Hasil Analisa Uji Tarik

No	Sampel	Kuat Tarik (Mpa)	Elongasi (%)
1	5 gr pati + 20% sorbitol + 1 gr kitosan	0,0061	1,2
2	5 gr pati + 30% sorbitol + 1 gr kitosan	0,0043	1,3
3	5 gr pati + 40% sorbitol + 1 gr kitosan	0,0043	1,3
4	5 gr pati + 50% sorbitol + 1 gr kitosan	0,0050	1,95
5	5 gr pati + 60% sorbitol + 1 gr kitosan	0,0035	0,6

Tabel 4. Hasil Analisa Uji Ketebalan

No	Sampel	Ketebalan (mm)
1	5 gr pati + 20% sorbitol + 1 gr kitosan	0,25
2	5 gr pati + 30% sorbitol + 1 gr kitosan	0,45
3	5 gr pati + 40% sorbitol + 1 gr kitosan	0,45
4	5 gr pati + 50% sorbitol + 1 gr kitosan	0,45
5	5 gr pati + 60% sorbitol + 1 gr kitosan	0,3
6	10 gr pati + 40% sorbitol + 1 gr kitosan	0,85
7	15 gr pati + 40% sorbitol + 1 gr kitosan	1,1

Kemudian dikeringkan di sinar matahari selama 2 hari. Setelah kering kemudian pati diayak untuk mendapatkan pati yang lebih halus. Dan kemudian didapatkan serbuk pati yang berwarna putih dan halus sebanyak 350 gram.

Pada pembuatan bioplastik ini, digunakan bahan tambahan berupa kitosan dan juga *plasticizer*. Penambahan *plasticizer* digunakan untuk menurunkan sifat kaku dari pati. *Plasticizer* merupakan cairan yang kental yang memiliki titik didih yang cukup tinggi, sehingga ketika dicampurkan akan memberikan suatu sifat yang lembut dan *flexibel*. Menurut Bader dan Göritz (1994), penambahan *plasticizer* pada material berbasis pati dapat menurunkan kerapuhan serta mencegah keretakan material selama penanganan dan penyimpanan. *Plasticizer* yang digunakan pada penelitian ini yaitu sorbitol.

Bioplastik ini dibuat dengan menggunakan pengaruh larutan sorbitol sebagai *plasticiser*. Konsentrasi sorbitol yang digunakan dari 20%, 30%,

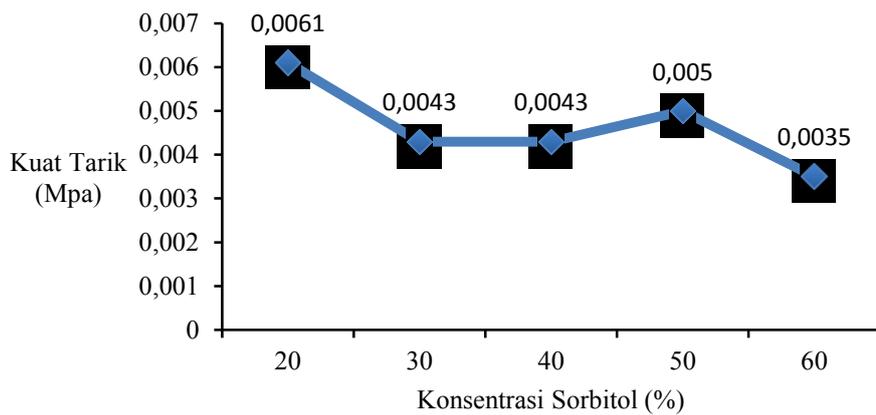
40%, 50% dan juga 60% dari komposisi pati yang digunakan. Setelah mendapatkan komposisi sorbitol yang optimum, maka dilakukan juga penelitian dengan memvariasikan pati. Komposisi pati yang digunakan mulai dari 5 gram, 10 gram dan juga 15 gram dan dengan komposisi sorbitol optimum yang telah didapat.

Pengaruh Komposisi *Plasticizer* Terhadap Kuat Tarik

Kuat tarik (*tensile strength*) merupakan sifat mekanik yang berhubungan erat dengan struktur kimia bioplastik. Kuat tarik menunjukkan gaya maksimum yang diperlukan untuk memutuskan bioplastik. Sifat ini tergantung pada jenis bahan pembentuk plastik yang mempengaruhi struktur bioplastik (Gennadios, dkk., 1994). Pengujian tarik pada bioplastik dilakukan dengan menggunakan alat uji tarik di Laboratorium Polimer Politeknik Negeri Sriwijaya. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kekuatan plastik jika ditarik dengan alat tersebut.

Tabel 5. Hasil Analisa Uji Degradasi Selama 10 Hari

Sampel No	Sebelum	Tanah	Air sungai	Air Laut	Air Steril
1					
2					
3					
4					
5					



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi sorbitol terhadap kuat tarik plastik

Data yang diperoleh dari uji tarik ini adalah kekuatan tarik dan juga kemuluran (*elongation*). Dari data yang di diperoleh, dianalisa bahwa konsentrasi sorbitol mempengaruhi kuat tarik yang dihasilkan pada plastik tersebut. Gambar 4 memperlihatkan pengaruh kuat tarik terhadap konsentrasi sorbitol.

Pada Gambar 4 menunjukkan hasil pengukuran uji kuat tarik bioplastik. Bioplastik dengan konsentrasi sorbitol 20% mempunyai nilai kuat tarik yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hasil pengukuran ini berhubungan erat dengan komposisi *plasticizer* yang ditambahkan pada proses pembuatan

bioplastik, semakin rendah konsentrasi sorbitol maka struktur plastik yang dihasilkan lebih kaku dan keras. Hal ini menyebabkan nilai kuat tarik yang dihasilkan tinggi. Penambahan sorbitol yang terlalu banyak akan membuat tekstur bioplastik menjadi lembut dan lebih mudah sobek sehingga gaya yang diberikan kecil.

Kuat tarik kondisi maksimum yang dihasilkan sebesar 0,0061 Mpa pada konsentrasi sorbitol 20% dan kondisi minimum yang dihasilkan sebesar 0,0035 Mpa pada konsentrasi sorbitol 60%. Jika dibandingkan dengan standar plastik internasional (ASTM5336) dalam (Utomo, dkk., 2013) besarnya kuat tarik untuk plastik PLA dari Jepang mencapai 2050 MPa dan plastik PCL dari Inggris mencapai 190 MPa, besarnya kuat tarik bioplastik yang dihasilkan dari penelitian ini adalah sebesar 0,0061 Mpa, di mana besar kuat tarik tersebut belum sesuai dengan standar yang digunakan oleh plastik PCL dari Inggris dan standar dari plastik PLA Jepang. Hal ini dikarenakan karena produk yang dihasilkan belum sepenuhnya adalah plastik, melainkan baru hanya bersifat plastik.

Pada konsentrasi 20%, plastik yang dihasilkan memiliki kuat tarik yang besar karena pada konsentrasi ini menghasilkan plastik yang kaku dan keras. Pada konsentrasi 30%, 40% dan 50% menghasilkan plastik yang lebih elastis, sedangkan pada konsentrasi 60%, plastik yang dihasilkan kurang elastis sehingga lebih mudah sobek saat ditarik, hal ini dikarenakan penambahan konsentrasi sorbitol yang melebihi kondisi optimumnya. Plastik yang optimum terdapat pada konsentrasi 50%, karena plastik yang dihasilkan lebih elastis dan lebih baik dari plastik dari konsentrasi lainnya.

Hasil Uji Biodegradasi

Pengujian biodegradasi bertujuan untuk mengetahui laju degradasi bioplastik sehingga dapat diperkirakan berapa lama waktu yang dibutuhkan bioplastik tersebut untuk terurai. Biodegradasi dilakukan dengan cara menguji plastik dengan menggunakan empat media yaitu tanah, air laut, air sungai dan juga air steril. Plastik yang diuji dipotong dengan ukuran 2x2 cm dan diletakkan pada media yang telah disiapkan. Pengujian ini dilakukan terhadap masing-masing sampel bioplastik yang telah dibuat. Hasil biodegradasi plastik dapat dilihat pada Tabel 5.

Pada media tanah, plastik diletakkan di atas tanah untuk melihat berapa lama plastik tersebut akan terurai. Plastik ini diuji degradasinya selama 10 hari. Selama 10 hari plastik belum terdegradasi, ini dikarenakan karena waktu yang dibutuhkan bioplastik untuk terurai yaitu sekitar 2 bulan. Jika dibandingkan dengan standar plastik internasional (ASTM5336) lamanya terdegradasi (biodegradasi) untuk plastik PLA dari Jepang dan PCL dari Inggris membutuhkan waktu 60 hari untuk dapat terurai keseluruhan (100%) (Utomo, dkk., 2013). Maka dari itu masih dibutuhkan penelitian yang lebih lanjut.

Pada media air, yaitu air sungai, air laut dan air steril, plastik diletakkan di dalam wadah yang telah

berisi media air yang akan dipakai untuk analisa biodegradasi. Plastik juga diuji selama 10 hari. Setelah 10 hari, plastik kemudian dikeluarkan dari air untuk diamati. Pada air steril, plastik belum terdegradasi, ini ini dikarenakan pada air steril, air dijaga agar tidak ada mikroba yang hidup untuk menguraikan plastik tersebut. Dan pada air sungai plastik mulai terdegradasi tetapi belum sempurna, plastik yang di uji dengan media air sungai mengalami perubahan warna menjadi kuning dan sedikit berlendir (berlumut) ini dikarenakan air sungai yang memiliki kadar mikroba yang tinggi. Dan pada air laut, plastik ini belum terdegradasi secara sempurna, untuk itu masih perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk menentukan berapa lama plastik tersebut akan terurai.

Hasil Uji Ketebalan

Ketebalan bioplastik ditentukan dengan menggunakan alat pengukur ketebalan jangka sorong dengan ketelitian 0,005 mm. Pengukuran ketebalan dilakukan untuk mengetahui tebal dari suatu plastik yang telah dihasilkan.

Ketebalan setiap plastik berbeda, hal ini disebabkan oleh pengaruh pencetakan bahan sebelum dikeringkan dan adanya perbedaan ukuran pada setiap plat kaca yang digunakan sebagai pencetak, karena pencetakan dilakukan secara manual.

Data yang diperoleh dari uji ketebalan ini adalah tebal plastik yang dihasilkan dari masing-masing konsentrasi sorbitol yang dibuat. Dari kelima sampel yang telah diukur ketebalannya, dapat dilihat bahwa pada plastik konsentrasi 20% sorbitol memiliki ketebalan 0,25 mm, pada plastik dengan konsentrasi 30%, 40%, pada 50% sorbitol memiliki ketebalan 0,45 mm, sedangkan pada plastik dengan konsentrasi 60% sorbitol memiliki ketebalan 0,3 mm. Kemudian pada perbandingan pati pada konsentrasi 10 gram dan 15 gram memiliki ketebalan 0,85 mm dan 1,1 mm.

Konsentrasi pati yang digunakan mempengaruhi hasil bioplastik yang dihasilkan. Pada konsentrasi 5 gram plastik memiliki ketebalan 0,45 mm, sedangkan pada konsentrasi 10 gram pati memiliki ketebalan 0,85 mm, kemudian pada konsentrasi 15 gram pati memiliki ketebalan 1,1 mm. Semakin banyak konsentrasi pati yang digunakan, akan menghasilkan bioplastik yang semakin tebal. Hal ini dikarenakan penambahan pati mempengaruhi kepadatan pada larutan, semakin banyak konsentrasi pati yang digunakan maka akan membuat total padatan dalam larutan semakin banyak dan menyebabkan ketebalan bioplastik yang dihasilkan semakin meningkat.

KESIMPULAN

Pembuatan bioplastik dilakukan dengan menggunakan pati dari singkong karet dengan tambahan bahan berupa sorbitol sebagai *plasticizer* dan kitosan. Pada proses pembuatan bioplastik ini dilakukan dengan memvariasikan kandungan pati dari 5 gram, 10 gram

dan 15 gram dengan kandungan bahan tambahan lain yang sama. Dan kandungan pati yang paling optimum adalah 5 gram, karena plastik yang dihasilkan dari pati dengan kandungan pati sebanyak 5 gram memiliki ketebalan yang lebih kecil dan tidak rapuh seperti kandungan pati 10 gram dan 15 gram.

Variasi *plasticizer* juga dilakukan, untuk mendapatkan kondisi plastik yang optimum. Komposisi sorbitol yang digunakan yaitu mulai dari 20%, 30%, 40%, 50% dan 60% dari berat pati yang digunakan. Semakin rendah komposisi sorbitol yang digunakan maka plastik yang dihasilkan semakin keras dan sebaliknya semakin banyak komposisi sorbitol yang digunakan maka plastik yang dihasilkan akan semakin elastis. Jika konsentrasi sorbitol yang digunakan melebihi kondisi optimum maka akan menghasilkan plastik yang lebih mudah hancur. Dari berbagai komposisi sorbitol yang digunakan, didapatkan plastik yang optimum adalah dengan konsentrasi 50% sorbitol dengan kuat tarik yang dihasilkan sebesar 0,0050 Mpa, elongasi 1,95% dan ketebalan 0,45 mm.

Konsentrasi sorbitol juga mempengaruhi kuat tarik plastik yang dihasilkan. Semakin rendah konsentrasi sorbitol maka struktur plastik yang dihasilkan lebih kaku, dan keras. Hal ini menyebabkan nilai kuat tarik yang dihasilkan tinggi. Penambahan sorbitol yang melebihi kondisi optimum akan membuat tekstur bioplastik menjadi lembut dan lebih mudah hancur sehingga kuat tarik yang dihasilkan lebih kecil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan keuangan penelitian, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi

memberikan dana proyek penelitian fundamental 2015, berjudul Produksi Bioplastik dari Umbi-Umbi Tanaman Beracun

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyanto, J. 2007. "Karakteristik Biofilm dari Bahan Dasar Polivinil Alkohol (PVOH) dan Kitosan". Skripsi: Bogor. IPB
- Bader, H.G and Göritz, D., 1994. Investigations on high amylose corn starch films Part 3: stress strain behaviour. *Starch/Stärke*, 46:435-439.
- Gennadios, A, McHugh, T.H, Weller, C.L, dan Krochta, J.M, 1994, *Edible Coating and Film Based on Protein. In Edible coating and film to Improve Food Quality*. Hal 201-278.
- Park, H.M., W.K. Lee, C.Y. Park, W.J Cho, dan C. S Ha. 2003. Environmentally Friendly Polymer Hybrids Part I Mechanical, Thermal, and Barrier Properties of Thermoplastic Starch/Clay Nanocomposites. *Jurnal Material Science*, No.38: 909-915.
- Subowo, S., dan S. Pujiastuti. 2003. [Plastik yang terdegradasi secara alami \(biodegradable\) terbuat dari ldpe dan pati jagung terlapis](#), *Prosiding Simposium Nasional Polimer IV*, hal 203-208.
- Utomo, A.W., B.D. Argo, dan M.B. Hermanto, 2013. *Pengaruh Suhu dan Lama Pengeringan Terhadap Karakteristik Fisikokimiawi Plastik Biodegradable dari Komposit Pati Lidah Buaya- Kitosan*. Jurusan Keteknikan Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Vol.1(1): 73-79

Kajian Fouling Protein pada Membran Berbasis Polisulfon

Bambang Piluharto*, Karlina, Dwi Indarti

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Jember

*E-mail: bampito.fmipa@unej.ac.id

ABSTRAK

Adsorpsi protein pada membran ultrafiltrasi sering mengakibatkan kinerja membran menurun. Penurunan kinerja membran ditandai dengan menurunnya fluks membran dan fenomena ini dikenal dengan fouling. Pembuatan material membran banyak diarahkan untuk menghasilkan membran yang memiliki ketahanan terhadap fouling. Penelitian ini telah mengembangkan membran berbasis polisulfon (PSF) dan mengkaji kajian foulingnya terhadap bovine serum albumin, BSA (protein). Dua jenis membran digunakan dalam penelitian ini, yaitu membran polisulfon dan membran polisulfon termodifikasi. Modifikasi membran dilakukan dengan metode sulfonasi. Kedua jenis membran dibuat dengan teknik inversi fasa. Kinerja membran diukur melalui parameter fluks protein dan fluks air. Pengukuran ini dilakukan pada larutan umpan yang memiliki pH yang berbeda. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada kedua jenis membran (PSF dan PSF termodifikasi), fluks BSA terendah pada pH 5. Sementara, ketahanan membran terhadap fouling protein, membran PSF termodifikasi lebih tinggi dibanding membran PSF.

Kata Kunci: adsorpsi, fouling, sulfonasi, inversi fasa, fluks

PENDAHULUAN

Permasalahan yang seringkali ditemui dalam teknologi membran adalah terjadinya *fouling*. *Fouling* merupakan suatu proses deposisi partikel terlarut pada permukaan membran dan/atau pori-pori membran akibat interaksi partikel terlarut-membran (Susanto dan Roihadin, 2011). Fenomena *fouling* secara langsung sulit diamati, namun demikian, satu indikatornya adalah penurunan fluks membran (Kurniawan, 2002). Fouling membran dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis *foulant*, konsentrasi umpan, suhu, pH dan kekuatan ion (Boorlagi, 2001).

Beberapa teknik telah banyak digunakan untuk mengurangi fouling membran baik secara fisik maupun kimia (Mulder, 1996). Dalam aplikasinya, teknik mengurangi fouling bisa dilakukan pada umpan maupun pada membrannya. Mengurangi fouling dengan cara memodifikasi membran telah banyak dilakukan. Secara umum, perlakuan dapat dilakukan dengan memodifikasi membran yang sudah ada dan melakukan blend dengan material yang lain.

Salah satu modifikasi membran yang bertujuan untuk mengurangi fouling adalah melalui modifikasi permukaan membran dengan teknik sulfonasi. Masuknya gugus sulfonat pada struktur polisulfon (PSF) akan menghasilkan suatu membran bermuatan yang bersifat polar dan hidrofilik (Handayani et al., 2007). Membran hidrofilik cenderung memiliki ketahanan fouling yang lebih tinggi dibanding dengan membran hidrofobik, khususnya untuk larutan umpan protein (Yamagishi et al., 1995). Penelitian ini akan mengkaji fenomena fouling pada membran polisulfon yang termodifikasi secara sulfonasi. Sebagai pembandingan untuk kajian foulingnya, digunakan membran polisulfon tanpa modifikasi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Polisulfon (Udel, Berat molekul (BM) 35000 Dalton), Asam sulfat 97%, Dimetilasetamida, Polietilen glikol 400, Bovine serum albumin (BSA) BM 66500 g/mol, sodium hidroksida, asam sitrat, sodium hydrogen fosfat, indicator fenolftalien, etanol 96%, .

Pembuatan Membran Polisulfon

Polisulfon (PSf) sebanyak 18% w/w (3,6 g) ditambahkan dengan larutan DMAc 72% w/w (15,3 mL) dan PEG 400 10% w/w (1,8 mL) dilarutkan dalam gelas erlenmeyer dengan pengadukan selama 16 jam sampai diperoleh larutan yang homogen. Setelah diperoleh larutan yang homogen, larutan tersebut didiamkan selama ± 4 jam untuk menghilangkan gelembung udara, kemudian larutan dicetak di atas kaca datar yang kedua sisinya telah diberi selotip. Setelah dicetak di atas kaca datar membran dicelupkan ke dalam bak koagulasi yang berisi nonpelarut (air). Sebelum direndam membran dibiarkan ± 5 detik. Membran yang telah terbentuk dikeringkan di udara terbuka. Terakhir, membran PSf yang dihasilkan disimpan dalam desikator (Piluharto *et al.*, 2011).

Sintesis Polisulfon Tersulfonasi (SPSF)

Sulfonasi polisulfon (PSf) dilakukan secara heterogen. Dalam hal ini sebanyak 3,6 gram PSf dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 36 mL H₂SO₄ 5 M yang sebelumnya telah dipanaskan sampai suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$, kemudian dilakukan refluks selama 3 jam sambil diaduk menggunakan pengaduk magnetik dan tetap menjaga suhunya pada 80°C (Handayani *et al.*, 2007).

Setelah proses sulfonasi selesai dilakukan, padatan SPSF dipisahkan dari larutannya. Padatan SPSF dicuci

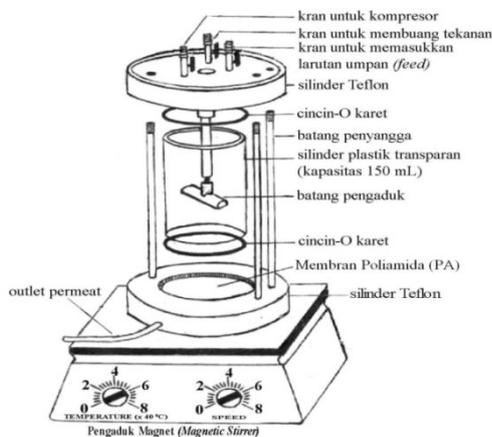
dengan aquades sebanyak 3 kali sampai diasumsikan netral kemudian disaring dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 2 jam (Piluharto et al., 2011).

Pembuatan Membran SPSF

Pembuatan membran SPSF ini menggunakan metode inversi fasa. 3,6 gram padatan SPSF ditambahkan dengan larutan DMAc 72% w/w (15,3 mL) dan PEG 400 10% (1,8 mL) dilarutkan dalam gelas erlenmeyer dengan pengadukan selama 16 jam sampai diperoleh larutan yang homogen. Setelah diperoleh larutan yang homogen, larutan tersebut didiamkan selama ± 4 jam untuk menghilangkan gelembung udara, kemudian larutan dicetak di atas kaca datar yang kedua sisinya telah diberi selotip. Setelah dicetak di atas kaca datar membran dicelupkan ke dalam bak koagulasi yang berisi nonpelarut (air). Sebelum direndam membran dibiarkan ± 5 detik. Membran yang telah terbentuk dikeringkan di udara terbuka. Terakhir, membran PSF yang dihasilkan disimpan dalam desikator (Piluharto et al., 2011).

Uji Fouling Protein pada pH 3, pH 5 dan pH 7

Uji kinerja membran dapat dilakukan dengan melakukan uji *fouling* adsorptif dan ultrafiltrasi dengan melakukan pengukuran fluks air dan BSA pH 3, 5 dan 7 menggunakan sel ultrafiltrasi (Gambar 3.2). Membran yang digunakan yaitu membran PSf (sebelum dimodifikasi) dan membran SPSF (setelah modifikasi).



Gambar 1. Skema alat ultrafiltrasi

Sebelum dilakukan uji fluks, membran dikompaksi terlebih dulu menggunakan tekanan 3 bar. Selanjutnya larutan *foulant* yaitu Bovine serum albumin (BSA) untuk masing-masing pH dimasukkan ke dalam sel ultrafiltrasi dan diukur fluksnya, sesuai persamaan berikut:

$$J_v = \frac{V}{A.t}$$

dengan J_v = fluks volume (L/m²jam); V = volume permeat (L). Setelah fluks larutan BSA diukur, larutan

BSA dikontakkan selama 1 jam dengan permukaan membran tanpa ada fluks pada pengadukan konstan, kemudian larutan dikeluarkan dan permukaan membran dibilas dua kali dengan cara mengisi sel filtrasi dengan aquades (5 mL). Setelah itu diukur fluks air sesudah adsorpsi. Dari nilai fluks air sebelum dan sesudah adsorpsi yang didapatkan digunakan untuk mengukur RFR (*relative water flux reduction*) dengan persamaan berikut:

$$RFR = \frac{J_{am} - J_{ads}}{J_{am}} \times 100\%$$

RFR adalah penurunan fluks air relatif, J_{am} adalah fluks air membran sebelum adsorpsi dan J_{ads} adalah fluks air membran sesudah adsorpsi (Susanto et al., 2006). Selanjutnya dari nilai RFR yang didapat diukur tahanan *fouling*nya menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Tahanan fouling} = \frac{J_{am}}{J_{ads}} = 1 - RFR$$

Karakterisasi Membran

a. Analisis Gugus Fungsi

Karakterisasi kualitatif membran PSf dan membran SPSF menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Analisis FTIR dilakukan untuk memperoleh data kualitatif dengan mendeteksi gugus fungsi membran hasil sulfonasi. Spektra FTIR diukur pada daerah bilangan gelombang 600-4000 cm⁻¹ (Piluharto et al., 2011).

b. Daya Serap Air (DSA)

Membran PSf dan SPSF masing-masing dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 18 jam dan ditimbang sebagai berat sampel kering (W kering). Selanjutnya, direndam ke dalam aquades selama 18 jam dan kelebihan air pada permukaan membran basah dihilangkan menggunakan kertas tisu sebelum ditimbang kembali. Membran ditimbang sebagai berat basah (W basah). Besar DSA dapat dihitung dengan persamaan berikut (Piluharto et al., 2011).

$$DSA = \frac{W \text{ basah} - W \text{ kering}}{W \text{ kering}} \times 100\%$$

c. Uji Densitas

Pengujian densitas yang dilakukan terdiri dari densitas larutan polimer dan densitas membran. Densitas larutan polimer diukur dengan menimbang massa larutan polimer dibagi dengan volume larutan polimer, sedangkan untuk pengukuran densitas membran yaitu membran dipotong dengan ukuran yang sama kemudian ditimbang dan diukur beratnya setelah itu menghitung volume membran yaitu luas permukaan dikalikan tebal film seperti pada persamaan 3.2 (Piluharto, 2001).

$$\text{Densitas} = \frac{\text{berat membran (gram)}}{\text{volume membran (cm}^3\text{)}} \dots (3.2)$$

d. Pengukuran Kapasitas Penukar Ion (KPI) dan Derajat Sulfonasi (DS)

KPI mengindikasikan banyaknya mili-equivaleen ion dalam 1 gram polimer kering. Penentuan KPI pada sampel membran SPSF dilakukan dengan merendam sampel dalam 50 mL NaOH 0,01 N selama 12 jam pada suhu ruang. Selanjutnya diambil 10 mL larutan tersebut untuk dititrasi dengan H₂SO₄ 0,01 N. Sebelum dilakukan titrasi pada sampel, dilakukan titrasi pada blanko (10 mL NaOH 0,01 N) Besar KPI dihitung dengan menggunakan persamaan berikut (Smitha *et al.*, 2003).

$$KPI = \frac{B - P \times 0.01 \times 5}{W}$$

KPI adalah Kapasitas Penukar Ion (m-eq/g), B adalah volume H₂SO₄ yang digunakan saat titrasi pada blanko (mL), P adalah volume H₂SO₄ yang digunakan saat titrasi pada sampel (mL), 0,01 adalah konsentrasi H₂SO₄ setelah distandarisasi (N), 5 adalah faktor pengali yang diperoleh dari perbandingan volume NaOH yang digunakan untuk merendam membran dengan volume yang diambil untuk titrasi.

Besarnya nilai KPI yang diperoleh dapat digunakan untuk memperoleh besarnya nilai derajat sulfonasi (DS). DS merupakan jumlah rata-rata dari gugus sulfonat yang ada dalam rantai polimer

tersulfonasi. Hubungan antara DS dengan KPI dapat dinyatakan dengan persamaan berikut (Handayani *et al.*, 2007).

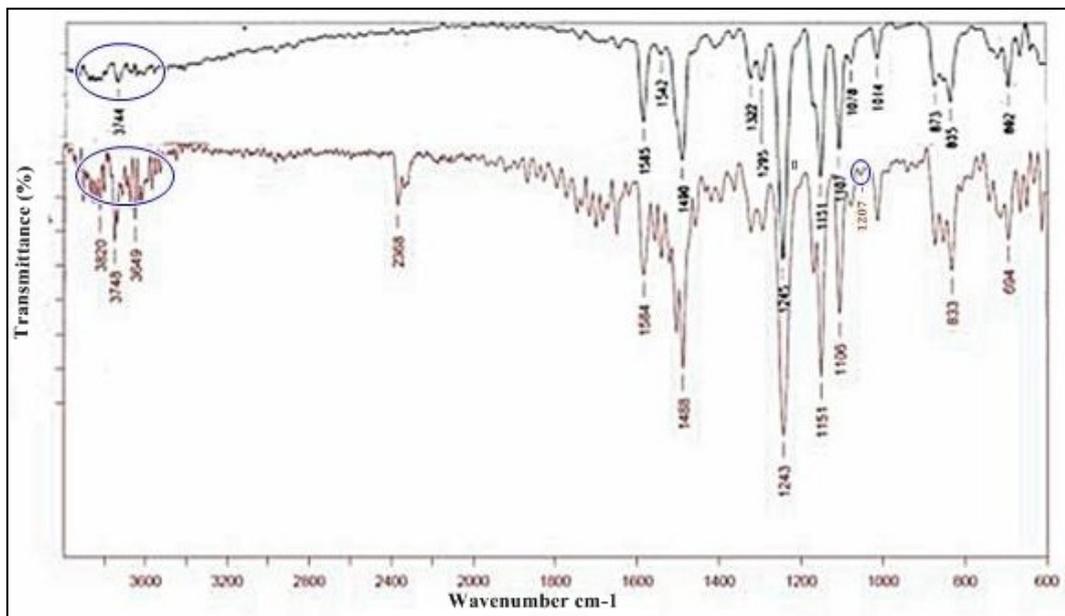
$$DS = \frac{Mo \times (KPI)}{1000 - 81 \times (KPI)} \times 100\%$$

Di mana, Mo adalah massa molar dari unit ulang polimer PSF (440 g/mol) dan 81 adalah massa molar dari gugus SO₃H (g/mol).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Membran polisulfon tersulfonasi (SPSF)

Membran SPSF diperoleh melalui reaksi sulfonasi pada membran PSF. Masuknya gugus sulfonat (-SO₃H) pada membran SPSF dapat dijelaskan melalui analisa gugus fungsi menggunakan FTIR yang ditunjukkan pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2 tersebut dapat ditunjukkan bahwa pada kedua membran PSF dan SPSF ada puncak serapan di daerah ~3700 cm⁻¹ yang mengindikasikan serapan gugus -OH. Namun, serapan di daerah ~1027 cm⁻¹ yang menunjukkan serapan O=S=O stretching hanya dimiliki oleh membran SPSF, tidak ada pada membran PSF. Hal ini menunjukkan adanya gugus -SO₃H yang masuk pada struktur PSF.



Gambar 2. Spektra FTIR membran PSF dan membran SPSF

Tabel 1. Paramater-parameter sifat fisik dan kimia membran PSF dan SPSF

Jenis Membran	DSA (%)	KPI (m-eq/g)	DS (%)
PSf	15,60	0,470	21,53
SPSF	33,02	1,26	61,49

Karakteristik sifat fisik dan kimia Membran PSF dan MembranSPSF

Karakterisasi fisikokimia ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses sulfonasi terhadap sifat fisik dan sifat kimia membran PSf. Karakterisasi yang dilakukan meliputi uji sifat fisik yaitu pengukuran daya serap air (DSA), dan sifat kimia yang terdiri dari kapasitas penukar ion (KPI) dan derajat sulfonasi (DS). Hasil yang diperoleh ditunjukkan pada table 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai KPI pada membran SPSF lebih besar daripada membran PSf. Hal ini menunjukkan bahwa membran SPSF memiliki kemampuan bertukar ion (H+) lebih besar dibandingkan dengan membran PSf. Hal ini dikarenakan pada permukaan membran SPSF terdapat gugus sulfonat (SO₃H) yang memiliki kemampuan menukarkan ion H⁺ nya dengan ion Na⁺ dari larutan NaOH.

Ditinjau dari nilai derajat sulfonasi, kecenderungannya menunjukkan bahwa derajat sulfonasi yang lebih tinggi juga memiliki nilai KPI dan DSA yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa, masuknya gugus sulfonat menghasilkan perubahan struktur yang lebih polar dan bersifat hidrofilik.

Karakteristik fluks Membran pada berbagai pH

Karakteristik kinerja membran selanjutnya yaitu pengukuran fluks BSA. Larutan BSA yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 1000ppm. Sebelum diukur fluksnya larutan umpan BSA yang digunakan dikondisikan pada pH 3, pH 5 dan pH 7.

Pengaruh pH larutan umpan BSA terhadap fluks dapat dilihat pada Gambar 3. Fluks terendah didapatkan pada pH 5, kondisi protein pH 5 dalam larutan berada dalam keadaan netral, tidak bermuatan atau titik ini disebut sebagai titik isoelektris protein (Ahmad, 2009). Karena pada pH ini protein netral (tidak bermuatan), maka kelarutan protein menjadi rendah dan protein cenderung membentuk *aggregate* menjadi molekul besar dan protein dengan mudah diserap pada permukaan membran dan menyebabkan terjadinya *fouling* protein. Berbeda dengan kondisi larutan BSA pada pH lain, dalam media cair, protein membentuk *zwitter ion* yaitu memiliki muatan positif dan negatif. Kondisi larutan BSA yang berada di bawah pH 5 (asam), maka larutan protein akan bermuatan positif sedangkan di atas pH 5 (basa), maka larutan protein akan bermuatan negatif. Sifat protein tergantung pada kondisi di sekitarnya sehingga mempengaruhi fluksnya.

Gambar 3 menunjukkan bahwa nilai fluks BSA pada membran SPSF lebih besar dibandingkan dengan

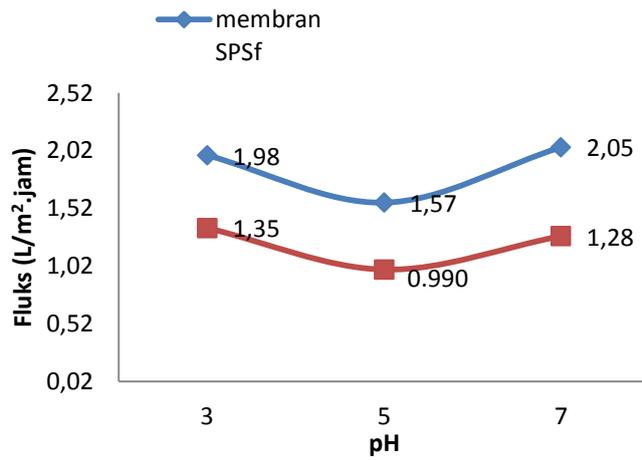
membran PSf. Hal ini dikarenakan pada permukaan membran SPSF terdapat gugus ionik (SO₃H) yang menyebabkan membran menjadi lebih polar dan menjadi lebih hidrofilik, sehingga interaksi antara membran SPSF dengan molekul protein BSA menjadi lemah. Akibatnya, protein BSA lebih mudah untuk melewati membran SPSF dibandingkan dengan membran PSf. Pengukuran fluks larutan BSA ini juga digunakan untuk menguji *fouling* adsorptif dengan mengukur fluks air setelah adsorpsi BSA.

Karakteristik *Fouling* Adsorptif

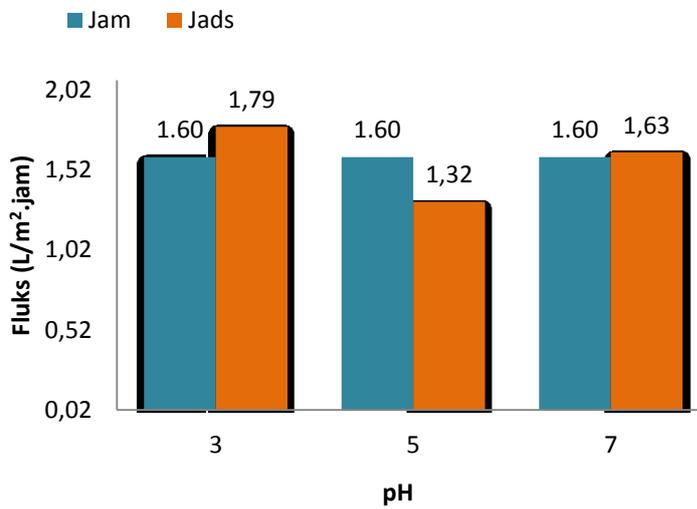
Interaksi membran dengan zat terlarut yaitu BSA diketahui setelah membran dikontakkan dengan larutan BSA selama 1 jam kemudian dilakukan pengukuran fluks air. Fluks air yang diperoleh ini merupakan fluks air setelah adanya adsorpsi BSA pada permukaan membran. Dengan mengetahui besarnya fluks air setelah adsorpsi BSA (J_{ads}), maka dapat diketahui besarnya ketahanan *fouling* pada membran PSf dan membran SPSF. Nilai ketahanan *fouling* didapatkan dari persamaan 3. Apabila besarnya ketahanan *fouling* sama dengan 1 atau lebih besar dari 1 berarti tidak ada *fouling* adsorptif yang terjadi.

Gambar 4 menunjukkan bahwa fluks air setelah adsorpsi BSA pH 5 pada membran PSf mengalami penurunan sedangkan fluks air setelah adsorpsi BSA pH 3 dan pH 7 mengalami kenaikan. Hal ini diakibatkan pada pH 5 BSA mengalami denaturasi dan membentuk agregat yang dapat menutupi pori-pori membran sehingga fluks air menurun. Turunnya fluks air ini menandakan terjadinya *fouling* adsorptif. Hal ini dikarenakan terbukanya struktur tersier pada BSA yang menyebabkan perubahan susunan molekul, sehingga terjadi interaksi hidrofobik antara protein BSA dengan permukaan membran PSf. Lain halnya dengan pH 3 dan pH 7, molekul protein BSA memiliki bagian-bagian yang polar ketika dikondisikan pada pH asam atau basa. Hal ini menyebabkan interaksi antara molekul BSA dengan permukaan membran menjadi lemah, sehingga larutan BSA pada pH 3 dan pH 7 dapat dengan mudah dibersihkan dengan pencucian membran sehingga fluks membran meningkat.

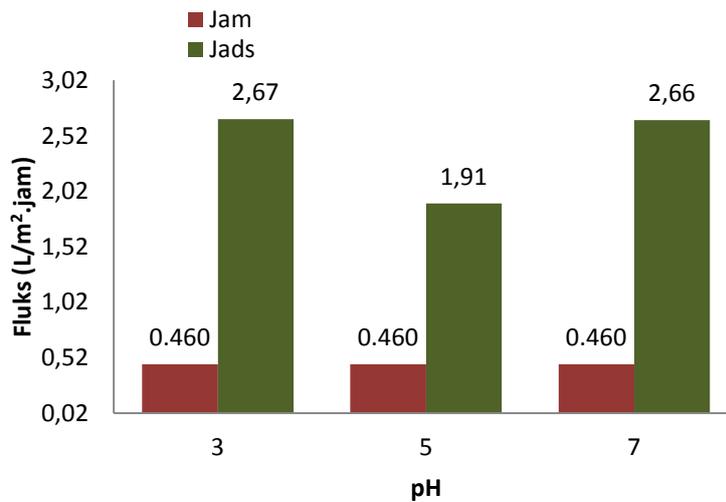
Protein BSA terdiri dari asam-asam amino yang dihubungkan oleh suatu ikatan peptida. Di dalam larutan, asam amino terionisasi dan dapat bersifat sebagai asam atau basa. Hal ini dikarenakan pada ujung-ujung rantai asam amino memiliki muatan positif atau negatif yang dikenal sebagai bentuk dipolar atau *zwitter ion*. Hal ini dapat menjelaskan fenomena meningkatnya fluks air sesudah adsorpsi pada membran SPSF dibandingkan dengan fluks air awal.



Gambar 3 Fluks BSA dengan berbagai pH



Gambar 4 Perbandingan nilai fluks air awal (J_{Am}) dengan fluks air setelah adsorpsi (J_{Ads}) pada membran PSF



Gambar 5 Perbandingan nilai fluks air awal (J_{Am}) dengan fluks air setelah adsorpsi (J_{Ads}) pada membran SPSF

Tabel 2. Harga RFR dan Ketahanan *Fouling* Membran PSf dan Membran SPSF

Jenis membran	RFR (%)			Tahanan <i>fouling</i>		
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 3	pH 5	pH 7
PSf	-11,9	17,5	-1,88	1,12	0,825	1,02
SPSF	-480	-315	-478	5,80	4,16	5,78

Adanya interaksi antara permukaan membran SPSF yang bersifat hidrofilik dengan molekul protein BSA yang bersifat dipolar menyebabkan fluks air sesudah adsorpsi menjadi lebih besar daripada fluks air awal. Hal ini disebabkan karena molekul BSA “menjembatani” antara permukaan membran dengan molekul air, di mana terjadi interaksi ion-dipol antara ujung asam amino yang bermuatan dengan air yang bersifat polar sehingga lebih cepat menarik molekul air akibatnya dapat meningkatkan fluks membran (Gambar 5).

Membran yang telah dimodifikasi (SPSF) bersifat hidrofilik dan memiliki energi permukaan yang lebih rendah dibandingkan dengan membran yang tidak dimodifikasi (PSf) (Yamagishi *et al*, 1995). Energi permukaan yang rendah ini mengakibatkan terbentuknya *cake layer* pada permukaan membran yang disebabkan oleh penumpukan dari molekul-molekul BSA yang tertahan pada permukaan membran hingga membentuk lapisan yang disebut dengan *cake* (Chilukuri, 1998). Pembentukan *cake* ini yang menyebabkan penyumbatan diluar pori. Namun penyumbatan ini bersifat reversibel biasa dikenal sebagai *fouling* reversibel. Sehingga mudah dibersihkan dengan pencucian membran. Berkurangnya fluks membran akibat adsorpsi BSA dapat ditentukan dengan mengukur penurunan fluks air relatif (RFR) dengan persamaan 3.

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai RFR yang diperoleh pada membran PSf menunjukkan bahwa penurunan fluks hanya terjadi pada membran PSf setelah adsorpsi BSA pH 5 yaitu sebesar 17,5 %. Hal ini dikarenakan adsorpsi protein lebih besar pada membran yang bersifat hidrofobik. Selain itu pada pH 5 protein BSA mengalami denaturasi sehingga menyebabkan terbentuknya agregat yang dapat menyumbat pori membran sehingga fluks menurun. Besarnya nilai RFR ini juga digunakan untuk mengevaluasi ketahanan *fouling* pada membran. Semakin besar nilai penurunan fluks airnya maka ketahanan suatu membran terhadap *fouling* semakin rendah, sehingga akan mudah untuk terjadi *fouling*. Sebaliknya, semakin kecil nilai penurunan fluks airnya maka membran tersebut memiliki ketahanan *fouling* yang baik. Nilai ketahanan *fouling* pada membran PSf setelah adsorpsi BSA pH 5 adalah paling rendah yaitu sebesar 0,825 (kurang dari 1) yang berarti menandakan terjadinya *fouling* adsorptive.

Menurut Wenten (2000), ketergantungan proses adsorpsi protein pada hidrofilisitas dan hidrofobisitas

membran disebabkan oleh perubahan struktur air. Ketika protein berada dalam larutan, permukaan protein berhubungan kuat dengan air, dimana energi bebas Gibbs dari molekul air yang terdekat dengan membran ditentukan oleh adanya interaksi ikatan hidrogen dan dipol. Namun, permukaan membran yang hidrofobik tidak dipengaruhi oleh interaksi tersebut. Akibatnya molekul air yang terdekat dengan permukaan membran hidrofobik mempunyai energi bebas Gibbs lebih rendah dibandingkan air dalam larutan. Sehingga pada kasus ini, akan menghasilkan interaksi tarik menarik yang cukup kuat antara protein dan permukaan membran yang menyebabkan terjadinya adsorpsi protein.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis hasil penelitian ini, dapat diambil kesimpulan bahwa masuknya gugus sulfonat pada struktur polisulfon (PSF), menghasilkan suatu membran dengan karakter yang lebih polar dan hidrofilik. Karakter ini mempengaruhi nilai fluks air dan proteinnya. Membran polisulfon termodifikasi (SPSF) memiliki nilai fluks air dan protein yang lebih tinggi dibanding membran PSF. Fluks protein dengan berbagai pH larutan umpam menunjukkan bahwa pH 5 memiliki fluks protein paling rendah pada kedua jenis membran, PSF dan SPSF. Analisis ketahanan *fouling*nya menunjukkan bahwa membran SPSF memiliki ketahanan *fouling* yang lebih tinggi dibanding membran PSF.

DAFTAR PUSTAKA

- Boerlage, S.F.E. 2001. *Scaling and Particulate Fouling in Membrane Filtration Systems*. Delft The Netherlands: Swets & Zeitlinger Publishers.
- Handayani, S., Eniya, L. D., Widodo, W. P., dan Roekmijati, W. S. 2007. Preparasi Membran Elektrolit Berbasis Poliaromatik Untuk Aplikasi Sel Bahan Bakar Metanol Langsung Suhu Tinggi. *Indonesia Journal of Material Science*. Vol. 8 (3): 192-197.
- Kurniawan, A. 2002. “Pengaruh Fouling Terhadap Konduktansi Listrik Pada Proses Filtrasi Membran Polisulfon”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: Jurusan Fisika, Institut Pertanian Bogor.

- Mulder, M. 1996. *Basic Principle of Membrane Technology*. 2nd Edition. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Piluharto, B. 2001. "Studi Awal Penggunaan Nata De Coco Sebagai Membran Ultrafiltrasi". Tidak Diterbitkan. Tesis. Bandung: ITB.
- Piluharto, B., Suendo, V., Ciptati, T., dan Radiman, C.L. 2011. Strong Correlation Between Membrane Effective Fixed Charge And Proton Conductivity In The Sulfonated Polysulfone Cation-Exchange Membranes. *Ionics*, Vol. 17 (3): 229–238.
- Smitha, B., Sridhar, S., and Khan, A.A. 2003. Synthesis and Characterization of Proton Conducting Polymer Membranes for Fuel Cells. *Journal of Membrane Science*. Vol. 225 (1): 63-76.
- Susanto, H., Balakrishnan, M., and Ulbricht, M. 2006. Via Surface Functionalization by Photograft Copolymerization to Low-fouling Polyethersulfone-based Ultrafiltration Membranes. *Journal of Membrane Science*. Vol. 288 (1): 157–167.
- Yamagishi, H., Crivello, J. V., Belfort, G. 1995. Development of a Novel Photochemical Technique for Modifying Poly(arylsulfone) Ultrafiltration Membranes. *Journal of Membrane Science*. Vol. 105 (3): 237-247.

Pengaruh Beberapa Senyawa Pereduksi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Dari Isolat Bakteri Selulolitik (*Bacillus subtilis* Strain SF01) Asal Limbah Ampas Tebu

Paula Yoita Suharto, Emi Sukarti, Henry Kurnia Setiawan, Lanny Hartanti*

Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

*Email: lanny.hartanti@ukwms.ac.id; lanny.hartanti@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa senyawa pereduksi seperti DTT (dithiothreitol), 2-merkaptetanol, dan L-gluthatione dengan lima varian konsentrasi masing-masing senyawa terhadap aktivitas ekstrak kasar selulase asal *Bacillus subtilis* strain SF01. Bakteri ini merupakan hasil isolasi dari limbah ampas tebu pada penelitian sebelumnya. Produksi enzim selulase oleh isolat bakteri *Bacillus subtilis* strain SF01 menggunakan media Nutrient Broth + Carboxymethyl Cellulose 1% selama 21 jam fermentasi. Enzim ekstraseluler kasar yang dihasilkan ditentukan terlebih dahulu kadar proteinnya dengan metode Bradford menggunakan pembanding Bovine Serum Albumin (BSA). Aktivitas enzim pada substrat CMC 1%, pH 5,0, suhu 60°C dan waktu inkubasi 45 menit ditentukan secara spektrofotometri berdasarkan pengukuran jumlah gula pereduksi yang direaksikan dengan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), pada panjang gelombang 550 nm dengan pembanding glukosa. Pengaruh ketiga senyawa pereduksi diteliti dengan mencampur ketiga senyawa ini dengan enzim selama 20 menit sebelum diuji aktivitasnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa DTT pada variasi konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 9 mM serta senyawa L-gluthatione pada variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 mM tidak berpengaruh terhadap aktivitas selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 (One way ANOVA, post hoc Tuckey HSD, $\alpha = 95\%$). Namun demikian, senyawa 2-merkaptetanol pada rentang konsentrasi 5 - 30 mM meningkatkan aktivitas selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 secara bermakna dengan aktivitas spesifik tertinggi adalah 0,2925 U/mg diperoleh pada penambahan konsentrasi 25 mM.

Kata Kunci : selulase, *Bacillus subtilis* SF01, pereduksi, aktivator

PENDAHULUAN

Berdasarkan penelitian terdahulu, enzim selulase dapat dihasilkan oleh isolat bakteri murni limbah ampas tebu. Isolat bakteri yang diberi kode SF01 ini termasuk bakteri genus *Bacillus* yang telah dikarakterisasi secara visual melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, dengan dan tanpa pewarnaan, karakterisasi biokimia, serta melalui uji KIT (Susanto, 2012). Upaya identifikasi bakteri SF01 ini dilakukan oleh peneliti berikutnya untuk menentukan spesies bakteri dan kemiripannya dengan bakteri selulolitik lain.

Beberapa langkah yang dilakukan yaitu analisis homologi 16S rRNA terhadap isolat *Bacillus* sp. dengan mengisolasi DNA kromosom, uji elektroforesis DNA, amplifikasi gen penyandi 16S rRNA menggunakan PCR (Polymerase Chain Reaction), dan sekuensing gen penyandi 16S rRNA untuk mengetahui urutan basa nukleotidanya lalu dibandingkan dengan yang ada pada GenBank, didapatkan hasil bahwa isolat bakteri SF01 memiliki kedekatan persentase homologi 99% dengan homologi *Bacillus subtilis* strain B7 (Ariputri, 2014). Walaupun terdapat perbedaan homologi 1% dengan *Bacillus subtilis* strain B7, *Bacillus subtilis* strain SF01 mempunyai keunikan yang membedakannya dengan *Bacillus subtilis* strain B7. Setelah dikarakterisasi lebih lanjut isolat bakteri SF01 ini berada pada fase pertumbuhan cepat pada jam ke-2 hingga jam ke-17 dan

masuk fase stasioner setelah jam ke-17. Waktu optimum untuk produksi enzim tersebut yaitu pada jam ke-22 setelah inkubasi, suhu optimum selulase 60°C, pH optimumnya 5, stabil pada suhu 60°C selama 5 jam, dan stabil pada rentang pH 4-6 (Utami, 2015; Hartanti, et al., in press). Pada penelitian ini akan diteliti 3 senyawa pereduksi terhadap aktivitas selulolitik asal *Bacillus subtilis* strain SF01, melalui informasi pengaruh penambahan senyawa-senyawa pereduksi ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mempertimbangkan pemilihan reagen atau media enzim selulase asal *Bacillus subtilis* strain SF01 yang digunakan untuk tahap pemurnian atau analisis enzim selulase lebih lanjut.

METODE PENELITIAN

Produksi Sel (inokulum) Isolat Bakteri SF01

Isolat bakteri yang telah diremajakan di media padat, digunakan untuk proses produksi sel (inokulum) dengan mengambil satu koloni bakteri SF01 dengan kawat ose yang kemudian dimasukkan ke dalam media NB + CMC cair 10 ml yang telah disiapkan. Setelah itu, wadah yang berisi media cair yang telah berisi isolat dimasukkan ke dalam shaker incubator pada 37 °C, kecepatan 125 – 150 rpm selama 18 jam.

Produksi Enzim Selulase

Inokulum isolat bakteri *Bacillus subtilis* SF01 diambil 10 ml dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam media produksi (NB + CMC 1%) steril. Setelah itu, wadah yang berisi media + inokulum ditempatkan dalam shaker incubator pada 37°C, dan diagitasi dengan kecepatan 150 rpm selama 21 jam. Setelah itu suspensi sel disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm pada 4°C selama 10 menit untuk memisahkan supernatan media yang mengandung enzim dengan sel. Supernatan media disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan digunakan untuk pengujian aktivitas enzim selanjutnya.

Uji Aktivitas Selulase

Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dilakukan dengan cara membuat stok glukosa monohidrat p.a 1000 ppm, kemudian dari stok, dipindah secara kuantitatif dengan variasi konsentrasi 100-900 ppm dari stok glukosa. Dengan menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm. Data yang diperoleh kemudian dibuat kurva standar antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

Kurva standar bovine serum albumin (BSA)

Kurva standar BSA dilakukan dengan membuat larutan BSA, dengan cara menimbang 50 mg BSA, dilarutkan dalam 5 ml air mQ sebagai stok. Kemudian dari stok, dipindah secara kuantitatif dengan variasi konsentrasi 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600 ppm dari stok BSA. Dengan menggunakan metode Bradford. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 595 nm. Data absorbansi yang diperoleh kemudian ditentukan aktivitas enzimnya melalui persamaan regresi yang didapatkan dari data kurva standar BSA.

Uji Aktivitas Selulase

Blangko substrat

300 µl buffer universal pH 5 di pipet ke dalam tabung mikro, lalu ditambahkan 100 µl substrat CMC 1%, di kocok dan di inkubasi suhu 60°C selama 45 menit. Kemudian 200 µl hasil inkubasi tersebut di pipet ke dalam tabung mikro, ditambahkan larutan DNS 1.200 µl, dikocok dan dipanaskan pada penangas air mendidih 100°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam air es selama 20 menit. Blangko substrat ini di autozero menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm.

Uji non senyawa pereduksi (0 ppm)

300 µl ekstrak kasar enzim selulase di pipet ke dalam tabung mikro, lalu ditambahkan 100 µl buffer universal pH 5, di kocok dan di inkubasi suhu 60°C selama 20 menit. Kemudian 300 µl dari hasil inkubasi di pipet ke dalam tabung mikro, ditambahkan 100 µl substrat CMC 1%, di kocok dan di inkubasi suhu 60°C selama 45 menit. Setelah di inkubasi, 200 µl hasil inkubasi

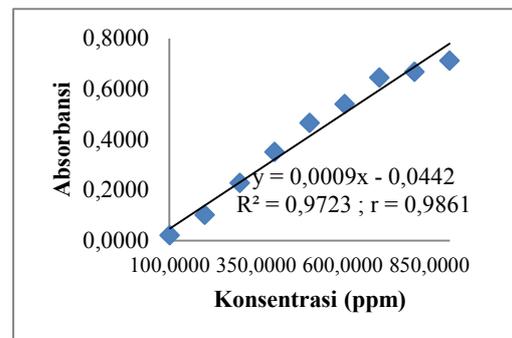
tersebut di pipet ke dalam tabung mikro, ditambahkan larutan DNS 1.200 µl, dikocok dan dipanaskan pada penangas air mendidih 100°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam air es selama 20 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm. Uji non senyawa pereduksi (0 ppm) ini dilakukan sebanyak 4 kali replikasi.

Uji aktivitas selulase dengan penambahan larutan senyawa pereduksi

300 µl ekstrak kasar enzim selulase di pipet ke dalam tabung mikro, lalu ditambahkan 100 µl larutan senyawa pereduksi, di kocok dan di inkubasi suhu 60°C selama 20 menit. Kemudian 300 µl dari hasil inkubasi di pipet ke dalam tabung mikro, ditambahkan 100 µl substrat CMC 1%, di kocok dan di inkubasi suhu 60°C selama 45 menit. Setelah di inkubasi, 200 µl hasil inkubasi tersebut di pipet ke dalam tabung mikro, ditambahkan larutan DNS 1.200 µl, dikocok dan dipanaskan pada penangas air mendidih 100°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam air es selama 20 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm. Uji aktivitas selulase dengan penambahan senyawa pereduksi ini dilakukan sebanyak 4 kali replikasi tiap konsentrasi.

Perhitungan Aktivitas Enzim

Kurva baku glukosa dibuat dari absorbansi pada 521 nm menggunakan persamaan garis linier $y = a + bx$, dengan ketentuan: $y =$ absorbansi (A); $x =$ kadar glukosa (ppm); $b =$ slope; $a =$ intercept.



Aktivitas enzim ditentukan dengan rumus (Ayuningtyas, 2008):

$$AE = \frac{MG \times 1000}{BMg \times MI}$$

dengan:

AE = aktivitas enzim (unit/ml); MG = miligram glukosa; BMg = berat molekul glukosa; MI = masa inkubasi (menit).

Analisis Statistika

Data aktivitas enzim selulase dari tiga kali replikasi pengujian pada berbagai kondisi perlakuan dimasukkan ke dalam program pengolah data statistika, SPSS Statistics 22.0, dan dilakukan analisis menggunakan metode One Way Anova dengan derajat kepercayaan

95% dan dilanjutkan dengan post hoc analisis metode Tuckey Test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

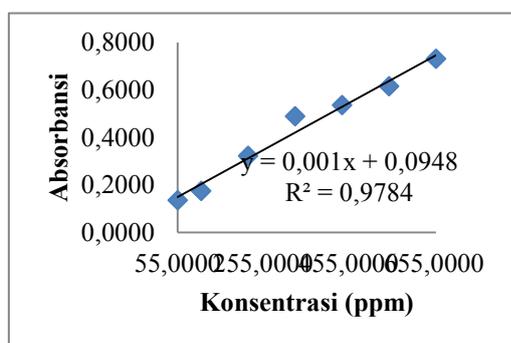
Pada bab ini akan disajikan interpretasi data hasil penelitian yang mencakup data kurva standar glukosa, kurva standar Bovine Serum Albumin (BSA), kurva aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan senyawa pereduksi DTT, 2-mercaptoetanol, dan L-gluthatione.

Setelah diuji dengan menggunakan One Way ANOVA derajat kepercayaan 95 persen, menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna dari empat replikasi aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan DTT dan antar konsentrasi.

Setelah diuji dengan menggunakan One Way ANOVA derajat kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari empat replikasi aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan 2-mercaptoetanol dan antar konsentrasi. Sehingga uji statistik dilanjutkan ke uji *post hoc* untuk membandingkan perbedaan 5 varian konsentrasi 2-mercaptoetanol dengan konsentrasi 0 ppm dan menunjukkan adanya perbedaan atau meningkat bermakna.

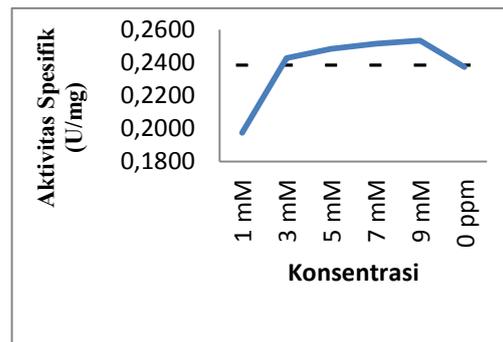
Setelah diuji dengan menggunakan One Way ANOVA derajat kepercayaan 95 persen, menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna dari empat replikasi aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan L-gluthatione dan antar konsentrasi.

Gambar 1. Kurva standar glukosa.

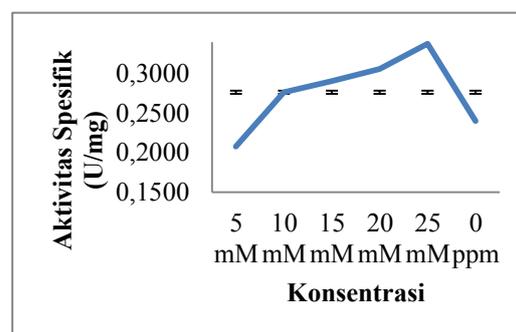


Gambar 2. Kurva standar BSA.

Gambar 3. Profil kurva aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan DTT pada berbagai variasi konsentrasi.



Gambar 4. Profil kurva aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan 2-mercaptoetanol pada berbagai variasi konsentrasi.

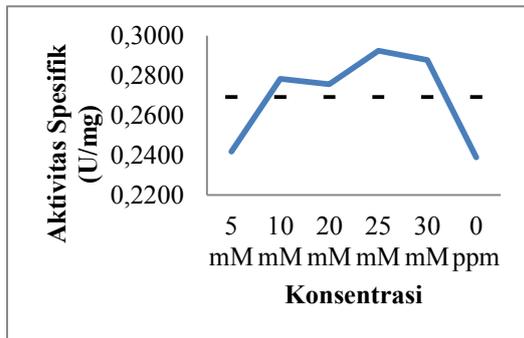


Gambar 5. Profil kurva aktivitas spesifik selulase pengaruh penambahan L-gluthatione pada berbagai variasi konsentrasi.

Pada Gambar 4 dan 5, aktivitas spesifik selulase asal *Bacillus subtilis* strain SF01 setelah penambahan senyawa 2-mercaptoetanol meningkat dari konsentrasi selulase 0 ppm, dan setelah diuji statistik dengan one way ANOVA (uji Tukey) terdapat perbedaan bermakna dengan konsentrasi 0 ppm yang berarti senyawa ini mempunyai pengaruh atau efek meningkatkan aktivitas enzim selulase mulai dari konsentrasi 10 sampai 30 mM dengan nilai tertinggi efek aktivatornya yaitu pada konsentrasi 25 mM sebesar 0,2925 U/mg. Hal ini selaras dengan penambahan 10 mM senyawa 2-mercaptoetanol yang juga meningkatkan aktivitas enzim selulase asal *B. Subtilis* YJ1 dan *B. vallismortis* RG-07, 2-mercaptoetanol dapat mengurangi ikatan disulfida dan *re-nature* aktivitas enzimnya, bila selama pemurnian dan penyimpanan terjadi oksidasi atau agregasi protein. Hal ini menandakan bahwa sisi aktif enzim mengandung kelompok gugus -SH (Yin, *et al*, 2010 ; Gaur and Tiwara, 2015). Sedangkan dengan penambahan berbagai konsentrasi senyawa DTT dan L-gluthatione tidak memberikan adanya pengaruh terhadap aktivitas selulase asal *B. subtilis* strain SF01 ini.

KESIMPULAN

Aktivitas spesifik tertinggi selulase asal *B. subtilis*



strain SF01 adalah 0,2925 U/mg diperoleh pada penambahan konsentrasi 25 mM senyawa 2-mercaptoetanol. Senyawa pereduksi lain seperti DTT dan L-glutathione tidak memberikan pengaruh terhadap aktivitas selulase asal *B. subtilis* strain SF01 tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Ariputri, D. R., 2014. Identifikasi Isolat Bakteri Penghasil Enzim Selulase dari Limbah Ampas

Tebu Berdasarkan Analisis Homologi Gen Penyandi 16S rRNA. Skripsi Sarjana Farmasi. Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, hal. 1-3, 39.

Gaur, R., Tiwara, S., 2015. Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* RG-07. *BMC Biotechnology*. 15:19, pp.12.

Hartanti, L., Susanto, F., Utami, C. P., Sukarti, E., Setiawan, H. K., & Ervina, M., 2014b. Screening And Isolation of Cellulolytic Bacteria from Bagasse and Characterization of The Cellulase Produced. In Proceedings of International Protein Society Seminar, University of Jember, Jember 29-30 Oktober 2014.

Susanto, F., 2012. Skrining Dan Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Selulase Dari Limbah Tebu. Skripsi Sarjana Farmasi. Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, hal. 2-3, 61.

Yin, L., Lin, H., & Xiao, Z., 2010. Purification and Characterization of a Cellulase From *Bacillus Subtilis* YJ1. *Journal of Marine Science and Technology*, **18(3)**, 466–471.

Isolasi Kitin Secara Enzimatis Dan Sintesis Hidrogel Melalui Kopolimerisasi Cangkok Asam Akrilat Pada Kitin Dari Limbah Udang

Yeni Patmawati*, A. Sjaifullah, dan Agung Budi Santoso

¹⁾ Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

Email : yeni.patma28@gmail.com

ABSTRAK

Limbah udang merupakan sumber kitin yang dapat diisolasi secara kimiawi dan enzimatis. Kitin diisolasi secara enzimatis menggunakan enzim protease dari sistem pencernaan udang dalam limbah udang dan dibandingkan dengan kitin isolasi kimiawi. Kadar nitrogen, kadar air, dan kadar abu kitin isolasi enzimatis sebesar 6,671, 0,036 dan 0,371%. Sedangkan kitin isolasi kimiawi sebesar 6,306, 0,262 dan 0,777%. Spektra IR kitin enzimatis dan kimiawi menunjukkan serapan-serapan khas kitin. Kitin dipolimerisasi dengan asam akrilat pada perbandingan kitin:AA 1:4, 1:8, 1:12, 1:16 dan 1:20. Semakin tinggi konsentrasi monomer asam akrilat yang ditambahkan, semakin tinggi %grafting dan %swelling. Spektra IR hidrogel kitin poli(asam akrilat) (Kitin-PAA) menunjukkan serapan baru di daerah 1712 cm⁻¹ yang merupakan serapan karbonil asam dari asam akrilat. Selain itu, serapan OH asam yang melebar juga dapat diamati pada spektra. Spektra IR hidrogel kitin-PAA semakin memperlihatkan serapan karbonil asam dan OH asam seiring meningkatnya konsentrasi asam akrilat yang ditambahkan.

Kata Kunci : Hidrogel, Kitin, Hidrogel Kitin-PAA

PENDAHULUAN

Salah satu hasil budidaya perairan Indonesia yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi yaitu udang (Jurnal kajian LEMHANNAS RI, 2012). Bagian udang yang dimanfaatkan terutama bagian dagingnya, sedangkan bagian kulit, kepala dan ekor dibuang sebagai limbah udang. Limbah udang mengandung komponen berupa kitin (15-20%), protein (25-44%) dan kalsium karbonat (45-50%) (Fohcher (1992) dalam Azhar *et al* (2010)). Kitin adalah polimer dari unit-unit monomer N-asetil-D-glukosamin berikatan β(1-4) dan terdistribusi luas di lingkungan biosfer (Herdyastuti, *et al.*, 2009).

Isolasi kitin dari limbah udang dapat dilakukan secara kimiawi melalui tahapan deproteinasi dengan basa kuat, demineralisasi dengan asam kuat serta depigmentasi menggunakan aseton dan NaOCl (No, *et al.*, 1989). Selain secara kimia, kitin juga dapat diisolasi secara biologis dengan menggunakan enzim protease untuk proses deproteinasi. Pengaktifan enzim protease (pepsin) dilakukan dengan merendam limbah udang dalam larutan HCl 1 M (Randriamahatody, *et al.*, 2011).

Hidrogel adalah jaringan polimer hidrofilik yang mampu menyerap air (Das, 2013). Asam akrilat (AA) adalah monomer vinil yang dapat digunakan untuk membuat hidrogel. AA mengandung gugus hidrofilik (-COOH) dan ikatan rangkap yang memudahkan inisiasi melalui reaksi polimerisasi radikal bebas. AA mudah mengalami homopolimerisasi menghasilkan poli(asam akrilat) dan dicangkokkan ke rantai utama polimer. Metode pencangkokan monomer vinil ke rantai polimer mampu mempertahankan sifat asli polimer (Zohuriaan-Mehr, 2004).

Penelitian ini akan mengkaji pengaruh variasi konsentrasi asam akrilat (AA) yang dicangkok pada kitin terhadap karakteristik hidrogel kitin-PAA yang dihasilkan. Kitin diisolasi secara enzimatis dengan merendam limbah udang dalam larutan HCl.

METODE PENELITIAN

Isolasi kitin secara enzimatis dilakukan dengan merendam limbah udang yang telah diblender dalam larutan HCl 1 M selama 10 hari dan dilakukan pengontrolan pH 1-2. Tiap 24 jam dilakukan pengukuran kadar N total padatan limbah udang dengan menggunakan metode kjeldahl. Isolasi kitin secara kimiawi dilakukan dengan tahapan deproteinasi, demineralisasi, dan depigmentasi berdasarkan metode No, *et al* (1989). Kitin hasil isolasi secara enzimatis dibandingkan dengan kitin isolasi kimiawi dan karakteristik kadar N, kadar air, kadar abu, dan spektra IR.

Kitin hasil isolasi secara enzimatis dilarutkan dalam NaOH 8%/urea 4% suhu -18⁰C, serta distirer selama 36 jam. Larutan kitin ditambahkan inisiator kalium persulfat (1% dari total monomer) dan asam akrilat dengan variasi konsentrasi kitin : AA 1:4, 1:8, 1:12, 1:16, dan 1:20 (b/b). Karakterisasi hidrogel meliputi %grafting, swelling, dan spektra IR.

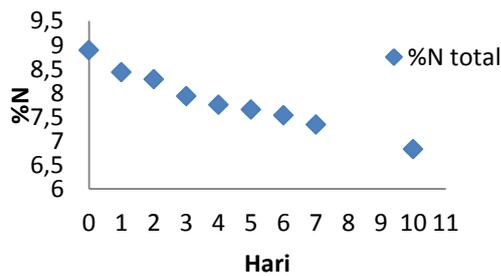
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Kitin dalam Limbah Udang

Gambar 1 memperlihatkan penurunan kadar nitrogen total limbah udang selama 10 hari perendaman. Penurunan paling besar terjadi pada hari pertama yaitu

0,457%. Menurut Randriamahatody, *et al* (2011), fase awal hidrolisis adalah cepat dimana sejumlah besar ikatan peptida dirusak. Hal ini diikuti penurunan tingkat hidrolisis dan semakin lama nilainya semakin rendah. Hasil karakterisasi kitin isolasi enzimatik dan kimiawi tersaji pada tabel 1.

Kadar N kitin hasil isolasi secara enzimatik dan kimiawi tidak berbeda jauh yaitu 6,671% dan 6,307%. Menurut No, *et al* (1989), kadar N kitin murni 6,9%. Sedangkan menurut Dutta, *et al* (2004) kandungan N total kitin sebesar 5-8%.



Gambar 1. Grafik Penurunan Kadar Nitrogen Total Limbah Udang 10 Hari Perendaman.

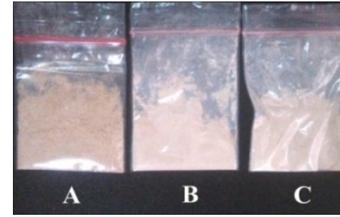
Tabel 1. Kadar N, Kadar Air, dan Kadar Abu Kitin Isolasi Secara Enzimatik dan Kimiawi

Analisis (%)	Kitin	
	Enzimatik	Kimiawi
Kadar N	6,671	6,306
Kadar Air	0.036	0.262
Kadar Abu	0.371	0.777

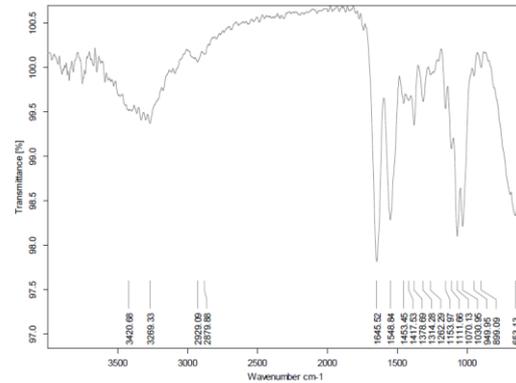
Isolasi kitin secara enzimatik dengan perendaman larutan HCl memiliki fungsi ganda yaitu memisahkan protein (deproteinasi) secara enzimatik dan mineral (demineralisasi). Kitin hasil isolasi secara enzimatik dan kimiawi memiliki kadar abu sebesar 0,371% dan 0,777%. Kadar abu kitin enzimatik lebih rendah akibat perendaman HCl yang lebih lama (10 hari). Kitin komersial memiliki kadar abu 0,3% (Qin, *et al.*, 2010) dan 1,6% menurut Liu, *et al* (2012). Beberapa kitin yang beredar dipasaran mensyaratkan kadar air tertentu, yaitu tidak lebih dari 10% (Food Grade dalam Mizani & Aminlari, 2007) dan kurang dari 5,5% menurut Qin, *et al* (2010). Kadar air kitin hasil isolasi secara enzimatik dan kimiawi sebesar 0,036% dan 0,262%.

Kitin terikat dengan pigmen warna astaxantin. Depigmentasi menggunakan aseton dan NaOCl. Aseton akan melarutkan pigmen-pigmen warna dan NaOCl sebagai agen *bleaching* yang mampu mengoksidasi astaxanthin. Gambar 2 memperlihatkan kitin setelah depigmentasi lebih putih dari serbuk limbah udang.

Spektra IR kitin hasil isolasi enzimatik dan kimiawi menunjukkan kemiripan. Spektra-spektra yang muncul merupakan spektra khas dari kitin (tabel 2).



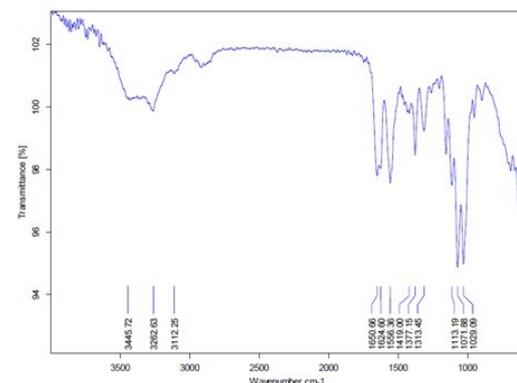
Gambar 2. Serbuk Limbah Udang (A), Kitin Hasil Isolasi Kimiawi (B), dan Kitin Hasil Isolasi Enzimatik (C).



Gambar 3. Spektra IR Kitin Enzimatik

Tabel 2. Pita Serapan Kitin Hasil Isolasi Secara Enzimatik dan Kimiawi

Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	Kitin Enzimatik	Kitin Kimiawi
Stretching O-H	3420	3445
Stretching N-H	3269	3262
Stretching C-H	2929-2879	2900-2800
Stretching C=O amida	1645	1650
Bending C-O	1070	1071
Bending -CH ₃	1378	1377

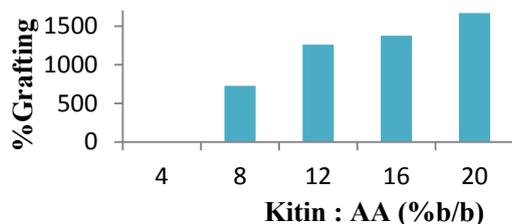


Gambar 4. Spektra IR Kitin Kimiawi

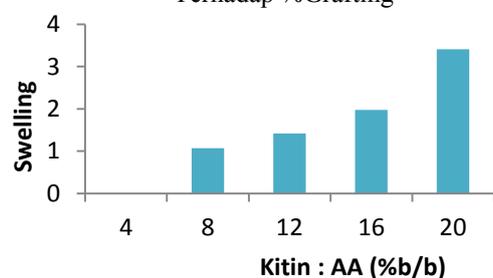
Sintesis Hidrogel

Persen grafting meningkat seiring meningkatnya konsentrasi monomer asam akrilat. Selama reaksi pencangkokan, monomer secara terus menerus berdifusi

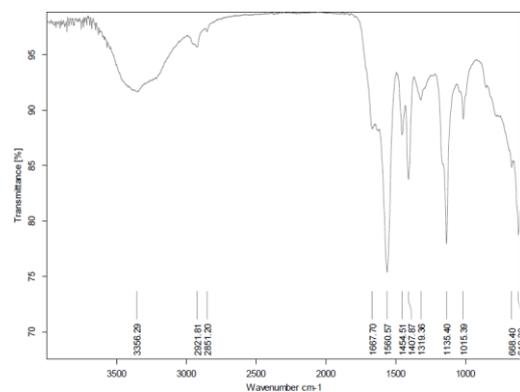
ke dalam matriks polimer. Kemampuan makroradikal kitin untuk menangkap asam akrilat bergantung pada ketersediaan molekul asam akrilat disekitarnya. Hidrogel kitin-PAA 1:4 tidak membentuk hidrogel padat, hanya berupa larutan kental dan larut dalam air. Hal ini karena kecilnya konsentrasi monomer asam akrilat yang ditambahkan.



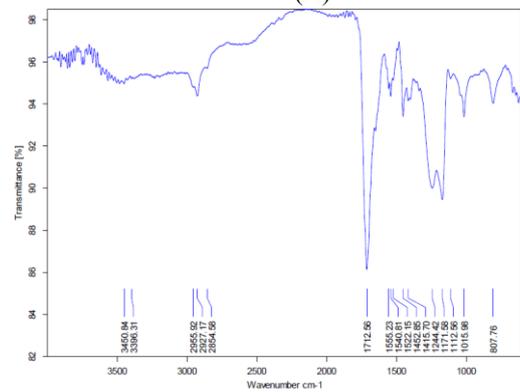
Gambar 5. Grafik Pengaruh Konsentrasi Monomer AA Terhadap %Grafting



Gambar 6. Grafik Pengaruh Konsentrasi Monomer AA Terhadap Swelling



(A)



(B)

Gambar 7. Spektra Hidrogel Kitin-PAA 1:4 (A) dan 1:20 (B)

Peningkatan swelling seiring meningkatnya konsentrasi monomer asam akrilat. Selain itu, semakin tinggi persen grafting maka semakin tinggi juga swelling yang dihasilkan. Peningkatan swelling dikaitkan dengan adanya gugus hidrofilik (-COOH) dari asam akrilat yang tercangkok pada kitin. Semakin banyak asam akrilat yang tercangkok, maka semakin banyak gugus hidrofilik pada hidrogel kitin-PAA sehingga lebih banyak menyerap air.

Spektra IR Hidrogel

Spektra hidrogel kitin-PAA menunjukkan spektra baru di daerah 1715 cm^{-1} yang sesuai dengan absorpsi karbonil asam dari asam akrilat. Pada hidrogel kitin-PAA 1:4 spektra ini tidak terlihat dan terlihat jelas pada hidrogel kitin-PAA 1:20. Selain serapan karbonil asam, serapan OH asam yang melebar di daerah $2300\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ juga dapat diamati. Serapan ini terlihat jelas pada hidrogel kitin-PAA 1:20 dan tidak tampak pada hidrogel kitin-PAA 1:4. Sehingga pencangkakan monomer asam akrilat ke kitin semakin besar seiring meningkatnya konsentrasi monomer asam akrilat yang ditambahkan. Berikut spektra IR hidrogel kitin-PAA 1:4 dan 1:20.

KESIMPULAN

Kitin hasil isolasi secara enzimatik memiliki kadar N, kadar air dan kadar abu tidak berbeda jauh dengan kitin isolasi kimiawi. Kadar N, kadar air, dan kadar abu kitin isolasi enzimatik sebesar 6,671, 0,036 dan 0,371%, sedangkan kitin kimiawi sebesar 6,306, 0,262 dan 0,777%. Spektra IR kitin enzimatik dan kimiawi menunjukkan kemiripan yang memperlihatkan spektra khas kitin. Penambahan asam akrilat pada larutan kitin membentuk hidrogel kitin-PAA pada konsentrasi kitin : AA 1:8% hingga 1:20% (%b/b). Persen grafting, swelling dan serapan karbonil dan OH asam meningkat dengan meningkatnya konsentrasi AA yang ditambahkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Das, N. 2013. Preparation Methods and Properties of Hydrogel: A Review. ISSN: 0975-1491. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, Vol. 5, Issue 3, 2013.
- Dutta, P. K., Dutta, J., dan Tripathi, V. S. 2004. Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*. Vol. 63, pp 20-31.
- Fohcher, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, A. dan Terbojevich, M. (1992). Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solution evidences from CP-MAS ^{13}C NMR,

- FTIR and FT-Raman Spectroscopy. *Carbohydrate Polymer*. 17 (2):97-102.
- Herdyastuti, N., Raharjo, T.K., Mudasir, dan Matsjeh, S. 2009. Kitinase dan Mikroorganisme Kitinolitik: Isolasi, Karakterisasi dan Manfaatnya. *Indo J. Chem*, 2009, 9 (1): 37-48.
- Jurnal Kajian LEMHANNAS. 2012. *Penataan Pengamanan Wilayah Maritim Guna Memelihara Stabilitas Keamanan dalam Rangka Menjaga Kedaulatan NKRI*. http://www.lemhannas.go.id/portal/images/stories/humas/jurnal/jurnal_hankam.pdf [19 Februari 2014].
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C., dan Yang, Q. 2012. Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia Parallela* Moltshulsky. ISSN 1420-3049. 17, 4604-4611.
- No, H.K., Meyers, S. P., dan Lee, K. S. 1989. Isolation and Characterization of Chitin from Crawfish Shell Waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 37, No. 3.
- Mizani, dan Aminlari, B., M. 2007. *A New process for Deproteinization of Chitin from Shrimp Head Waste*. Proceedings of European Congress of Chemical Engineering Copenhagen.
- Qin, Y., Lu, X., Sun, N., dan Rogers, R., D. 2010. Dissolution or Extraction of Crustacean Shells Using Ionic Liquids to Obtain High Molecular Weight Purified Chitin and Production of Chitin Films and Fibers. *Journal of The Royal Society of Chemistry*.
- Randriamahatody, Z., Sylla, K. S. B., Nguyen, H. T. M., Moreno, C. D., Razanamparany, L., Bourgougnon, N., dan Berge, J. P. 2011. Proteolysis of Shrimp by Products (*Peaneus monodon*) from Madagascar. *Journal of Food*, Vol. 9, Issue 3, Pages 220-228.
- Zohuriaan-Mehr, M. J. 2004. Advances in Chitin and Chitosan Modification through Graft Copolymerization: A Comprehensive Review. *Iranian Polymer Journal* 14 (3), 2005, 235-265.

Sintesis Fotokatalis Lapis Tipis TiO₂/SiO₂ untuk Fotodegradasi Pestisida Diazinon

Novita Andarini dan Yasinta Sarosa

Jurusan Kimia Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

ABSTRAK

Telah dilakukan fotodegradasi pestisida diazinon dengan fotokatalis TiO₂ yang telah dimodifikasi. TiO₂ dimodifikasi untuk meningkatkan luas permukaannya serta penambahan material pendukung SiO₂ dengan binder/perekat colloidal silika dan dibentuk menjadi lapis tipis. Fotokatalis lapis tipis TiO₂/SiO₂ dibuat dengan mengimmobilisasi TiO₂ hasil modifikasi (TNP) dengan SiO₂ dengan binder colloidal silika yang dilapiskan tipis pada kaca dengan perbandingan 3 ; 2 : 20. Optimasi pembuatan Lapis Tipis dilakukan dengan bervariasi waktu hidrothermal sintesis TNP yaitu 6 dan 10 jam. Proses fotodegradasi diazinon dilakukan dalam sistem batch dalam reaktor tertutup yang dilengkapi dengan lampu UV dengan variasi lama fotodegradasi yaitu 0, 30, 60 90 dan 120 menit. Konsentrasi pestisida diazinon akhir yang tidak terdegradasi ditentukan dengan spektrofotometer UV-VIS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fotokatalis lapis tipis TiO₂/SiO₂ yang optimum mendegradasi diazinon adalah lapis tipis yang dibuat dari TiO₂ yang dihidrothermal 10 jam. Hasil optimasi lama fotodegradasi diazinon dengan fotokatalis lapis tipis TiO₂/SiO₂ adalah 60 menit

Kata Kunci : TiO₂, hidrothermal, fotodegradasi, diazinon

PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah penduduk di Indonesia menyebabkan peningkatan kebutuhan pangan yang harus diimbangi dengan peningkatan produksi pangan untuk menjamin kebutuhan gizi masyarakat. Salah satu cara untuk meningkatkan produksi pangan masyarakat yaitu dengan meningkatkan produksi pertanian. Upaya peningkatan produksi pertanian salah satunya dengan menggunakan pestisida organik sintetis sebagai cara mengendalikan hama. Penggunaan pestisida secara kuantitatif dan kualitatif selalu meningkat seiring dengan peningkatan produksi pertanian.

Pengendalian hama yang menyerang tanaman dilakukan dengan cara penyemprotan pestisida pada tanaman sehingga pestisida akan tertinggal pada tanaman yang kemudian akan terbilas oleh air dan mengalir ke atas tanah maupun sungai atau periran yang lain. Penggunaan pestisida yang intensif dapat menyebabkan penyebaran pestisida di lingkungan yang semakin luas dengan konsentrasi yang tinggi. Hal ini berakibat pada terjadinya pencemaran lingkungan oleh pestisida yang beracun dan berbahaya. Selain itu juga dapat menyebabkan kerusakan lingkungan dan jika manusia bersentuhan dapat mengalami iritasi pada kulit, jika dikonsumsi melalui makanan dan minuman dapat menyebabkan keracunan sampai kematian.

Pestisida organik sintetis yang umum digunakan petani dan produksinya berlanjut hingga saat ini adalah jenis pestisida organofosfat seperti diazinon. Dari segi lingkungan, ketidakstabilan senyawa organofosfat seperti diazinon menyebabkan persisten dari senyawa ini lebih rendah daripada organoklorin, sehingga dalam hal penggunaan secara bertahap pestisida organoklorin

akan tergantikan oleh pestisida organofosfat. Walaupun demikian, menurut Sastroutomo (dalam Zulkarnain, 2010) senyawa organofosfat ini lebih beracun terhadap hewan bertulangbelakang jika dibandingkan senyawa organoklorin dan dengan konsentrasi yang kecil mampu menyebabkan kematian.

Melihat dampak negatif dari penggunaan pestisida maka harus dilakukan upaya penanganan pencemaran residu pestisida yaitu peruraian residu pestisida dengan bantuan katalis TiO₂ dan sinar UV. Dengan metode fotodegradasi ini, pestisida akan terurai menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana dan aman bagi lingkungan (Gunlazuardi, 2001).

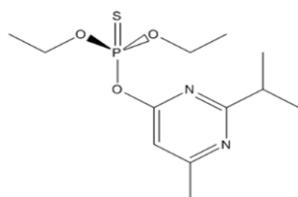
Pada perkembangan awal TiO₂ digunakan sebagai fotokatalis dalam sistem suspensi yang menghasilkan proses fotokatalitik yang tidak dibatasi oleh transfer massa. Sistem suspensi memiliki beberapa kelemahan yaitu terjadi pemisahan partikel TiO₂ dengan larutan yang telah digunakan memerlukan waktu yang cukup lama, dayatebus UV yang terbatas karena absorpsi yang kuat oleh TiO₂, dan spesi organik terlarut. Beberapa faktor tersebut memicu penelitian mengenai proses fotokatalitik dengan sistem lapis tipis TiO₂. TiO₂ dapat diimmobilisasi dengan material pendukung seperti fiber, gelas, silika, dan plat titanium (Nurdin, 2009). Silika cukup dipertimbangkan sebagai material pendukung karena memiliki kemampuan adsorpsi yang tinggi dan harganya relatif murah. Selain menambahkan silika, TiO₂ disintesis menjadi TiO₂ nanopartikel untuk mendapatkan TiO₂ dengan luas permukaan lebih tinggi sehingga diharapkan dapat meningkatkan aktivitas fotodegradasinya. Immobilisasi TiO₂ oleh silika gel dapat dilakukan dengan menggunakan colloidal silika

sebagai binder (perekat). Penggunaan colloidal silika sebagai perekat cukup efektif, hal ini dikarenakan daya rekat yang dimiliki oleh colloidal silika cukup tinggi dalam campuran silika gel. Immobilisasi TiO_2 oleh silika gel untuk fotodegradasi senyawa organik seperti zat warna, senyawa fenolik sudah banyak dikaji (Nur Fauziah dkk, 2008; Radhyah dkk, 2009; Wong dkk, 2011; Stangar dkk, 2012; Klankaw dkk, 2012), namun belum banyak diuji untuk fotodegradasi pestisida diazinon.

Pestisida adalah substansi kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk mengendalikan berbagai hama. Pestisida juga diartikan sebagai substansi kimia dan bahan lain yang mengatur dan atau menstimulasi pertumbuhan tanaman atau bagian-bagian tanaman. Sesuai konsep Pengendalian Hama Terpadu (PHT), penggunaan pestisida ditujukan bukan untuk memberantas atau membunuh hama, namun lebih dititikberatkan untuk mengendalikan hama sedemikian rupa hingga berada dibawah batas ambang ekonomi atau ambang kendali.

Organofosfat adalah insektisida yang paling toksik di antara jenis pestisida lainnya dan sering menyebabkan keracunan pada manusia. Bila tertelan, meskipun sedikit dapat menyebabkan kematian pada manusia (Zulkarnain, 2010). Pestisida yang termasuk ke dalam golongan organofosfat antara lain: etion, demeton metil, azinofosmetil, klorifos, diklorovos, dimetoat, disulfoton, palation, malation, paration, diazinon, klorpirifos. Diantara pestisida organofosfat yang umum dipakai oleh petani di Indonesia adalah diazinon. Diazinon mulai dikenal oleh petani Indonesia sejak 1970-an yaitu pada saat program intensifikasi pertanian diperkenalkan di Indonesia (Indraningsih dan Sani, 2004)

Diazinon merupakan insektisida yang sangat efektif digunakan untuk memberantas dan membasmi, ataupun mengendalikan hama-hama tanaman seperti kutu daun, lalat, wereng, kumbang penggerek padi, dan sebagainya. Diazinon umumnya digunakan pada tanaman buah, padi, tebu, jagung, tembakau dan tanaman hortikultura. Insektisida dengan bahan aktif diazinon mempunyai nama dagang yang beragam diantaranya : basazinon 45 EC, basminon 60 EC, basudin 60 EC, basudin 10 G, brantasan 450 EC, diazinon 60 EC, sidazinon 600 EC, dazzel, nucidol, agrostar 600 EC, gardentox, kayazol, knox out, spectracide dan prozinon 600 EC (Barabas, *et al.*, 1998). Diazinon memiliki struktur seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Diazinon

Diazinon sangat *mobile* pada tanah dengan kandungan bahan organik rendah sampai sedang, dan *immobile* pada kandungan bahan organik tinggi. Koefisien partisi oktanol air mengindikasikan diazinon bias diakumulasi secara biologis dalam organisme, dan ini telah dijumpai pada ikan pada konsentrasi maksimum 300-360 kali konsentrasi di air. Volatilitas diazinon adalah $2,4 \text{ mg m}^{-3}$ pada 20°C dan $18,6 \text{ mg m}^{-3}$ pada 40°C . Diazinon mempunyai waktu paruh (*half-life*) 30 hari dan koefisien serap oleh tanah = $1,000 \text{ E}$ (Smith *et al.*, 2007).

Fotokatalis TiO_2 dapat berfungsi sebagai fotokatalis yaitu mempercepat reaksi oksidasi-reduksi yang diinduksi oleh cahaya (fotooksidasi-reduksi). Hal ini karena TiO_2 mempunyai struktur semikonduktor yaitu struktur elektronik yang dikarakterisasi oleh pita valensi (*vb*) yang terisi elektron dan pita konduksi (*cb*) yang kosong. Pita konduksi memiliki energi lebih tinggi daripada pita valensi dan perbedaan energi (selisih energi) antara kedua pita disebut energi celah pita atau *band gap energy* (E_g) sebesar 2-3,5 eV (Hoffmann, *et al.*, 1995).

Penggunaan fotokatalis TiO_2 pada saat ini banyak digunakan dalam bentuk lapisan tipis, yaitu dengan mengimmobilisasi TiO_2 pada berbagai material pendukung diantaranya fiber, gelas silika, dan pelat titanium (Nurdin, 2009). Silika merupakan material pendukung yang umum digunakan karena memiliki luas permukaan yang tinggi, daya adsorpsi yang tinggi, tidak toksik dan relatif murah. Immobilisasi TiO_2 oleh SiO_2 menggunakan perekat colloidal silika adalah pilihan yang tepat karena ramah lingkungan, metodenya sederhana dan murah.

Penelitian Wang dkk (2011), fotokatalis TiO_2 nanotube yang diimmobilisasi oleh SiO_2 dengan perekat colloidal silika sangat efektif dalam mendegradasi fenol. Berdasarkan penelitian tersebut, fotokatalis yang paling baik dalam mendegradasi fenol adalah fotokatalis yang memiliki perbandingan antara TiO_2 , silika gel dan colloidal silika sebesar 3 : 2 : 20.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pestisida organofosfat hasil produksi PT. Petrokimia Kayaku yaitu Diazinon 600 EC, TiO_2 merck, silika gel, colloidal silika, NaOH (Merck), HCl 37% (Merck), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), aluminum foil, tissue, plastic bening, dan akuades.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet volume, pipet tetes, pipet mohr, pipet mikro, pengaduk, spatula, timbangan analitik, botol semprot, penangas listrik, *teflon-lined autoclave*, furnace, beaker glass, desikator, oven, stirrer (pengaduk magnetik), sejumlah kaca ukuran 4x4 cm, kaca arloji, labu ukur, corong kaca, gelas ukur, satu set alat reactor fotokatalis, pH meter, BET dan spektrofotometer UV-Vis U-1800 Hitachi.

Modifikasi TiO₂ (TNP)

Sebanyak 2,5 gram TiO₂ dengan struktur anatase dilarutkan dalam 75 mL NaOH 9 M dalam 100 mL teflon-lined, kemudian distirer selama 15 menit. Suspensi yang dihasilkan dimasukkan kedalam *autoclave* kemudian dimasukkan kedalam oven. Proses hidrotermal dilakukan pada suhu 150 °C selama 10 jam. Setelah itu, *autoclave* dikeluarkan dari oven dan didinginkan sampai suhu ruang. Hasil yang diperoleh disaring dan dicuci berkali – kali dengan 0,1 M HCl dan akuades sampai dicapai pH 7. Proses pencucian dilakukan dengan melarutkan endapan yang diperoleh kedalam *beaker glass* berisi larutan 0,1 M HCl dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian diukur pH larutan hingga mencapai pH 7. Endapan yang dihasilkan dikeringkan dalam oven pada suhu 130°C selama 8 jam. Hasil yang diperoleh adalah TNP. Selanjutnya TNP 1 dikarakterisasi dengan BET untuk mengetahui luas permukaan fotokatalis TNP (Tsai dan Teng, 2004).

Preparasi Colloidal Silika

Preparasi colloidal silika sebagai perekat dilakukan dengan melarutkan 1 gram SiO₂ ke dalam 4 ml larutan NaOH 1 M. Selanjutnya dilakukan pemanasan hingga mendidih disertai pengadukan oleh stirrer magnetic selama 120 menit. Selanjutnya akhir sampel disaring dan filtrat yang mengandung silika ditampung. Langkah terakhir adalah mengendapkan silika yaitu menambahkan larutan HCl 1 M ke dalam filtrat secara bertahap hingga pembentukan endapan silika berhenti (pada rentang pH 6,5 - 7). (Kammath dan Proctor, 1998)

Immobilisasi TNP/silika gel

Sampel ITiO₂ *nanotube* yang siap digunakan selanjutnya akan dilakukan immobilisasi ke dalam matriks silika gel dan colloidal silika sebagai *binder*. Pada proses immobilisasi, perbandingan massa jumlah TiO₂ *nanotube* : silika gel : colloidal silika adalah 3 : 2 : 20. Selanjutnya fotokatalis yang tersedia kemudian distirer selama 15 menit. Hasil yang berupa sol gel kemudian dilapiskan di atas lempengan kaca 4x4 cm yang tersedia.

Fotodegradasi diazinon dengan Fotokatalis TiO₂/SiO₂

Dimasukkan 25 mL larutan diazinon 200 ppm kedalam erlenmeyer 50 mL kemudian ditambahkan film lapis tipis sebanyak 5 mg. Bagian atas erlenmeyer yang sudah berisi campuran tersebut ditutup dengan plastik bening dan kemudian disinari sinar UV dari reaktor dalam keadaan reaktor tertutup dengan variasi lama penyinaran 0, 30, 60, 90, dan 120 menit. Dilakukan pengadukan yang samapada setiap variasi menggunakan *stirrer* selama penyinaran. Larutan setelah foto degradasi difiltrasi di dalam kotak gelap. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam kotak gelap yang berbeda dengan wadah botol gelap. Larutan tersebut dianalisis dengan spektrofotometer UV untuk mengetahui konsentrasi diazinon yang tereduksi dengan 3 kali pengulangan untuk masing-masing variasi lama penyinaran.

Analisis Data

Penentuan Konsentrasi Diazinon Tersisa

Dari kurva kalibrasi yang dihasilkan pada saat uji aktivitas akan didapatkan suatu persamaan yaitu $y = ax + b$. x diganti dengan C_t . Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui konsentrasi Diazinon 600 EC yang tersisa.

$$\text{konstr. akhir diazinon } (C_t) = \frac{y - b}{a}$$

Persentase Kemampuan Fotokatalis Pendegradasi Diazinon

Penentuan persentase kemampuan fotokatalis dalam mendegradasi senyawa diazinon dapat ditentukan menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\%$$

Keterangan:

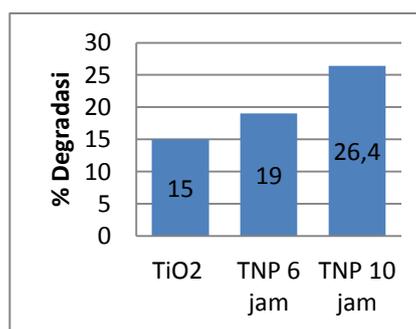
C_0 = Konsentrasi awal larutan diazinon (ppm)

C_t = Konsentrasi larutan diazinon hasil foto degradasi (ppm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Modifikasi TiO₂

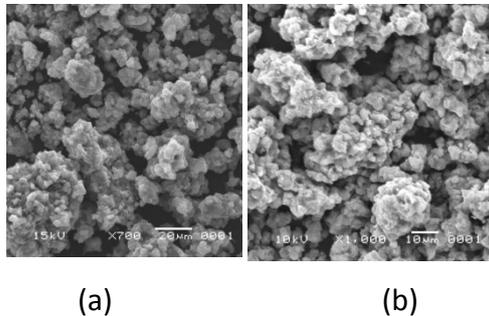
Proses modifikasi TiO₂ menjadi TNP pada penelitian ini dilakukan dengan metode hidrotermal dengan suhu hidrotermal 150° dan waktu hidrotermal 6 jam dan 10 jam. Hasil sintesis TiO₂ nanopartikel kemudian diuji aktivitas fotodegradasinya pada diazinon. Hasil aktivitas fotodegradasinya dibandingkan dengan aktivitas fotodegradasi TiO₂ awal dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Persen degradasi diazinon dengan fotokatalis TiO₂

Sebagaimana yang tampak pada gambar 2 bahwa fotokatalis TiO₂ aktivitas fotodegradasinya meningkat dengan perlakuan hidrotermal. Selanjutnya fotokatalis yang mempunyai aktivitas fotodegradasi tertinggi ini yaitu TNP yang disintesis selama 10 jam dikarakterisasi dengan SEM dan BET. Hasil SEM TNP 10 jam dapat dilihat pada gambar 3 dan dari data BET diketahui luas

permukaan TNP sebesar 77,216 m²/g untuk yang meningkat hampir sembilan kali lipat dibandingkan dengan luas permukaan TiO₂ awal yaitu sebesar 8,907 m²/g.

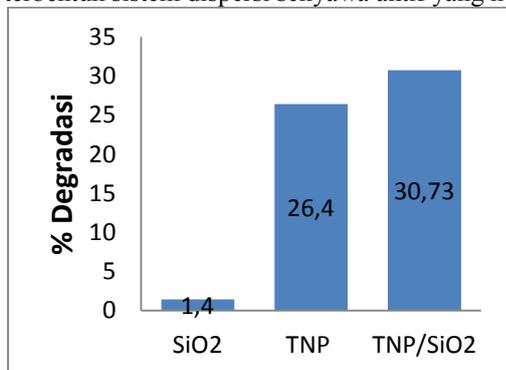


Gambar 3. Hasil karakterisasi TiO₂ (TNP 10 jam) dengan SEM (a) Perbesaran 700X (b) Perbesaran 1000 X

Immobilisasi TNP oleh SiO₂

TiO₂ nanopartikel hasil hidrotermal 10 jam diimmobilisasi oleh SiO₂ dengan perekat colloidal silika yang dilapiskan tipis di atas lempengan kaca dengan perbandingan antara TNP : SiO₂ : colloidal silika adalah 3 : 2 : 20. Lapis tipis TiO₂/ SiO₂ yang telah dibuat kemudian diuji aktivitas fotodegradasinya dengan variasi waktu fotodegradasi dengan pH sistem 7. Hasil fotodegradasi lapis tipis TiO₂/SiO₂ menunjukkan peningkatan jika dibandingkan dengan TiO₂ serbuk seperti dapat dilihat pada gambar 4

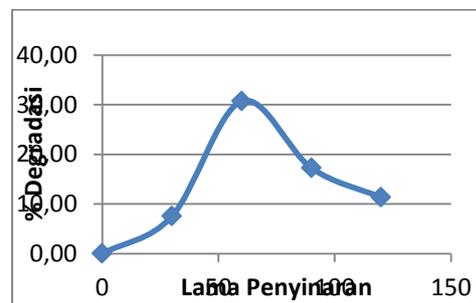
Peningkatan aktivitas fotodegradasi oleh fotokatalis tersebut dapat diduga akibat peningkatan luas permukaan fotokatalis. Aktivitas fotodegradasi katalis oleh TNP dibandingkan dengan TiO₂ awal terjadi peningkatan yang cukup besar karena terjadi peningkatan luas permukaan hampir sembilan kali lipat. Peningkatan aktivitas katalis lapis tipis diduga akibat adanya material pendukung dalam hal ini SiO₂ pada fotokatalis yang dapat meningkatkan luas permukaan katalis dan mendistribusikan senyawa aktif ke pori-pori permukaan bahan penyangga secara merata sehingga terbentuk sistem dispersi senyawa aktif yang homogen.



Gambar 4. Persen degradasi diazinon dengan SiO₂, TNP, TNP/SiO₂

Optimasi Waktu Fotodegradasi

Hasil optimasi waktu degradasi atau lama penyinaran dapat dilihat pada gambar 5. Berdasarkan gambar 5 dapat dilihat bahwa waktu efektif fotodegradasi adalah 60 menit. Fenomena yang terjadi bahwa semakin lama waktu penyinaran maka semakin besar persen degradasinya namun menurun lagi ketika disinari lebih lama lagi. Hal ini menurut Ghozali, *et al* (2012) kecenderungan menurun dapat disebabkan karena terjadinya reaksi terminasi radikal bebas yang membentuk senyawa baru sehingga mempengaruhi proses degradasi senyawa diazinon



Gambar 5. Kurva variasi lama penyinaran

KESIMPULAN

Fotokatalis lapis tipis TiO₂/SiO₂ mempunyai aktivitas fotokatalitik yang optimum pada lapis tipis TiO₂ dengan TiO₂ yang dihidrotermal selama 10 jam (TNP 10 jam) dan waktu efektif untuk mendegradasi diazinon dengan fotokatalis lapis tipis TiO₂/SiO₂ adalah 60 menit

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada LEMLIT UNEJ yang mendanai penelitian ini dengan dana Hibah Pembinaan pada tahun 2014

DAFTAR PUSTAKA

- Anpo, M. & Kamat, P. V. 2010. Environmentally Benign Photocatalyst Application of Titanium Oxide-based Materials. New York : Springer Science.
- Barabas, K., Gyorgyi, S., dan Albert. 1998. Environmental Aspects : Diazinon- Physiological Effect : Diazinon. New York : World Health Organization.
- Gunlazuardi, J. 2001. Fotokatalisis pada Permukaan TiO₂ Aspek Fundamental dan Aplikasinya. Seminar Nasional Kimia Fisika II Jurusan Kimia. Jakarta: FMIPA Universitas Indonesia.

- Hoffmann., Martin, Choi, dan Bahnemann. 1995. Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis Chem Rev., 95, 66-96.
- Kammath, S. R. & Proctor, A. 1998. Silika from Rice Hull Ash : Preparation and Characterization. Cereal Chemistry, Vol.75(4): 484-487.
- Kanklaw, P. Et all, 2012, The Hybrid Photocatalyst of TiO₂-SiO₂ Film Prepared from Rice Huck Silica, elsevier, : Superlattice and Microstructure 51, hal 343-352
- Linsebigler, A. L., Lu, Guangquan, dan Yates, J. T Jr. 1995, Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanism, and Selected Result, Chem. Vol.95: 735-758.
- Nurdin, M. 2009. Aktivitas Fotokatalitik Lapis Tipis Titanium Dioksida Nanopartikel pada Degradasi Polutan Organik Congo Red. Kendari : *Jurnal Teknologi Pengelolaan Limbah*
- Fauziah, Nur, Zuhairi, Ahmad, Rahman, Abdul, 2008, Development of supported TiO₂ Photocatalyst Based Adsoegradation of Phenol Conference on Environment
- Oudenhoven, J., Scheijen, F., and Wolffs, M. 2004. "Fundamentals of Photocatalytic Water Splitting by Visible Light". Tidak Diterbitkan. Review. Eindhoven: Faculteit Scheik Oudenhoven, J., Scheijen, F., and Wolffs, M. 2004. "Fundamentals of Photocatalytic Wundige Tecnologie Technische Universsstatelt Eindhoven.
- Pohan, N. 2004. Pestisida dan Pencemarannya. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Stranger, U.V et all, 2012, Solution-derived Photocatalytic Films for Environmenmetal Cleaning Applications, IOP Conference Series : Material Science and Engineering 30, IOP Publishing
- Smith, Cooper, Lizotte, Locke, dan Knight. 2007. Pesticides in Lake Water in the Beasley Lake watershed. New York : *Int J Ecol Environ Sci* Vol.33: 61-71.
- Wong, C. L., Tan, Y. N., Rahman, A., 2011, Photocatalytic Degradation of Phenol Using Immobilized TiO₂ Nanotube Photocatalysts. *Journal Of Nanotechnology*, Vol. 2011, Hindawi Publishing Corporation