

Studi Pemanfaatan Ekstrak Lignin Kulit Kopi Sebagai Inhibitor Organik Korosi Besi

Zainul Hasan*, Tri Mulyono, I Nyoman Adi Winata

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jember

E-mail: hasan.140692@gmail.com

ABSTRAK

Besi dapat mengalami korosi akibat pengaruh lingkungan. Salah satu cara menghambat korosi yaitu menggunakan inhibitor organik. Kulit kopi merupakan limbah industri dengan kandungan lignin yang diindikasikan dapat digunakan sebagai inhibitor korosi. Lignin dipisahkan dari kulit kopi dengan metode ekstraksi dan untuk mengetahui gugus fungsinya dilakukan uji IR. Inhibisi korosi besi ditentukan dengan metode weight loss. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak lignin kulit kopi dengan variasi konsentrasi dan temperatur terhadap laju korosi besi dalam medium korosi HCl 1 M. Studi termodinamika dilakukan untuk mengetahui proses inhibisi ekstrak lignin kulit kopi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju korosi menurun dengan penambahan konsentrasi lignin. Namun, variasi temperatur menyebabkan meningkatnya laju korosi. Studi termodinamika menghasilkan nilai E_a , ΔH , ΔS , and ΔG_{ads}° yang menunjukkan bahwa ekstrak lignin kulit kopi dapat menghambat korosi melalui proses adsorpsi fisik dan reaksi berlangsung spontan.

Kata Kunci: Korosi, Inhibitor, Kulit Kopi, Lignin.

PENDAHULUAN

Definisi umum korosi yaitu kerusakan yang terjadi secara bertahap. Korosi merupakan reaksi kimia atau reaksi elektrokimia antara material logam dan lingkungan yang menyebabkan kerusakan material dan sifat-sifatnya [1].

Inhibitor organik merupakan inhibitor yang berasal dari alam seperti tanaman. Adsorpsi inhibitor organik pada permukaan logam dapat terjadi secara fisik atau kemisorpsi [2]. Inhibitor merupakan metode perlindungan yang fleksibel, mudah diaplikasikan, dan tingkat keefektifan biayanya paling tinggi [3].

Pemanfaatan kulit kopi umumnya hanya sebagai pakan ternak, pupuk organik, dan briket. Kandungan kimia kulit kopi selain mengandung senyawa alkaloid, serat, protein, lemak, dan lignin. Kulit kopi mengandung lignin dengan kisaran 6-25% tergantung proses pengolahannya [4].

Lignin adalah makromolekul fenolik terdiri dari tiga unit fenilpropana utama (monolignol) yaitu: koniferil alkohol, sinapil alkohol, dan p-kumaril alkohol [5]. Gugus OH dan cincin aromatik pada struktur lignin diketahui sebagai pusat adsorpsi yang membentuk lapisan inhibitor [6].

METODE PENELITIAN

Alat

Alat gelas, neraca analitik, ampelas, kertas saring, ayakan 70 mesh, FTIR, *water bath*, oven, mesin penggiling.

Bahan

Akuades, asam klorida (HCl *merck* 37%), asam sulfat (H₂SO₄ *merck* 98%), aseton (CH₃COCH₃), besi kerangka beton, kulit kopi, natrium hidroksida (NaOH *merck*).

Preparasi Besi

Besi diameter 1 cm dipotong sepanjang 5 cm dan di bor bagian tengahnya. Besi dibersihkan dan ditimbang berat awalnya.

Ekstraksi Lignin Kulit Kopi

Kulit kopi dioven hingga kering pada temperatur 60°C selama 24 jam. Kulit kopi kering digiling dan diayak dengan ayakan 70 mesh. 200 gram serbuk kulit kopi direndam dalam 2 L NaOH 15 %. Campuran larutan dipanaskan menggunakan *water bath* pada temperatur 80°C dan diaduk selama 2 jam, kemudian didinginkan hingga terbentuk endapan. Endapan dipisahkan dari filtratnya. Filtrat diasamkan dengan H₂SO₄ 40% hingga pH 2 dan terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk disaring dan dikeringkan dalam oven dengan temperatur 60°C selama 4 jam kemudian didinginkan [7]. Hasil ekstrak dianalisa menggunakan FTIR untuk menentukan gugus fungsinya.

Uji Inhibisi Korosi Besi

Besi direndam selama 3 jam dalam tabung reaksi yang berisi 15 mL larutan HCl 1 M dengan variasi konsentrasi lignin 0, 5, 10, 15, dan 20 gram/L HCl 1 M dan variasi temperatur 303, 313, 323, dan 333K.

Analisa Data Inhibisi

- Laju reaksi korosi dirumuskan :
- Besar inhibisi dirumuskan :

Studi Termodinamika korosi

Penentuan Parameter Adsorpsi

- Adsorpsi isothermal Langmuir dirumuskan :
- Persamaan Temkin dirumuskan :

Penentuan Termodinamika Korosi

- E_a dihitung dengan persamaan Arrhenius:
- Penentuan entalpi dan entropi dihitung dengan persamaan:

Energi bebas adsorpsi dihitung dengan persamaan:

HASIL DAN PEMBAHASAN

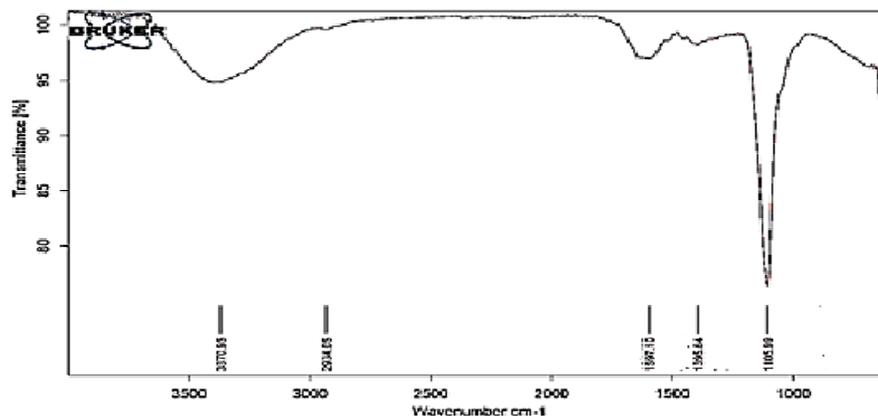
Ekstraksi Kulit Kopi

Kulit kopi dikeringkan dan digiling, kemudian diayak dengan ayakan 70 mesh untuk mendapatkan ukuran partikel yang homogen. Penambahan NaOH 15 % berfungsi melarutkan senyawa fenolik pada lignin sehingga terbentuk garam fenolat yang larut. Fungsi pemanasan pada temperatur 80°C selama 2 jam adalah untuk menghomogenkan larutan dan mempercepat reaksi pembentukan garam fenolat sehingga lignin terpisah dari senyawa lainnya. Setelah proses pemanasan dilakukan penyaringan untuk memisahkan senyawa lain yang mengendap dengan lignin terlarut setelah dilakukan proses pengendapan.

Larutan lignin kemudian diasamkan dengan H₂SO₄ 40% hingga pH ± 2 untuk mengendapkan kembali lignin yang terlarut. Endapan lignin dipisahkan dengan cara disaring, kemudian hasil endapan dikeringkan dalam oven dengan temperatur 60°C sehingga diperoleh lignin dalam bentuk padat.

Analisa Uji FTIR Ekstrak Lignin Kulit Kopi

Berdasarkan hasil spektrum yang telah dibandingkan dengan serapan lignin standar [8]. Gambar 1. menunjukkan adanya gugus fungsi OH dengan adanya puncak serapan pada panjang gelombang 3370,95 cm⁻¹. Puncak pada panjang gelombang 2934,05 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan C-H alkil, dan cincin aromatik ikatan C=C ditunjukkan pada panjang gelombang 1597,10 cm⁻¹. Daerah *finger print* pada kisaran panjang gelombang 700-1500 cm⁻¹ mengindikasikan ikatan atom. Panjang gelombang 1455,99 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan C-H asimetris, 1105,99 merupakan ikatan C-O eter. Hasil tersebut menunjukkan adanya gugus OH dan cincin aromatik yang merupakan struktur utama lignin. Gugus OH diindikasikan berperan pada proses inhibisi.



Gambar 1. Spektrum FTIR Lignin Kulit Kopi

Tabel 1. Nilai K_{ads}

Temperatur	303 K	313 K	323 K	333 K
K _{ads}	2.31739	1.58124	1.46217	1.27350

Tabel 2. Nilai Energi Aktivasi

Konsentrasi	0 g/L	5 g/L	10 g/L	15 g/L	20 g/L
E _a (kJ/mol)	28.34243	30.92808	32.41629	40.90488	48.78655

Tabel 3. Nilai Entalpi dan Entropi

Konsentrasi	ΔH (kJmol ⁻¹)	ΔS (kJmol ⁻¹ K ⁻¹)
5 g/L	28.29488	0.00099
10 g/L	29.77381	0.00361
15 g/L	38.27514	0.02916
20 g/L	46.14461	0.05219

Tabel 4. Energi Bebas Adsorpsi

Temperatur	303 K	313 K	323 K	333 K
ΔG ⁰ _{Ads} (kJmol ⁻¹)	-12.2372	-11.6463	-11.8081	-11.7911

Pengaruh Variasi Konsentrasi dan Temperatur Inhibitor Ekstrak Lignin Kulit Kopi Terhadap Laju Korosi Besi

Pengaruh konsentrasi dan temperatur terhadap laju korosi digambarkan pada Gambar 2. Gambar tersebut menunjukkan semakin besar konsentrasi lignin, maka laju korosi semakin rendah tetapi laju korosi meningkat dengan meningkatnya temperatur.

Penentuan Adsorpsi Isotermis

Adsorpsi isotermis ditentukan dengan persamaan garis Langmuir dan Temkin. Persamaan Temkin memiliki nilai regresi lebih tinggi daripada persamaan Langmuir dari hasil persamaan garis $\log C$ vs θ . Adsorpsi isotermis Temkin lebih sesuai digunakan pada proses adsorpsi inhibitor organik [9]. Nilai K_{ads} dari persamaan Temkin ditunjukkan pada Tabel 1.

Nilai konstanta adsorpsi pada Tabel 1. digunakan untuk menentukan besar energi bebas adsorpsi yang dapat menyatakan adsorpsi inhibitor terjadi secara fisik (fisisorpsi) atau kimia (kemisorpsi).

Studi Termodinamika korosi

Energi Aktivasi

Ea ditentukan dengan persamaan Arrhenius dari plot garis $1/T$ vs $\ln CR$. Hasil dari persamaan garis menghasilkan nilai Ea yang dituliskan pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2. nilai energi aktivasi meningkat dengan penambahan konsentrasi inhibitor. konsentrasi inhibitor dapat meningkatkan nilai energi aktivasi sehingga laju korosi besi menurun.

Perubahan Entalpi dan Entropi

Berdasarkan nilai Tabel 3. entalpi bernilai positif pada menunjukkan bahwa reaksi berjalan secara endoterm. Sementara nilai entropi yang bernilai positif mengindikasikan bahwa proses inhibisi ekstrak lignin berjalan spontan.

Energi Bebas Adsorpsi

Tabel 4 menunjukkan bahwa energi bebas adsorpsi bernilai negatif yang mengindikasikan reaksi berlangsung spontan. Reaksi inhibisi berjalan secara fisisorpsi untuk nilai ΔG^0_{Ads} diatas -20 kJ/mol dan nilai dibawah atau sama dengan -20 kJ/mol menunjukkan adsorpsi kimia [10]. Berdasarkan nilai tersebut disimpulkan bahwa proses adsorpsi ekstrak lignin kulit kopi sebagai inhibitor korosi besi terjadi secara fisik (fisisorpsi) dan berlangsung spontan.

KESIMPULAN

Lignin kulit kopi dapat digunakan sebagai inhibitor korosi dengan hasil spektrum IR yang menunjukkan adanya gugus fungsi yang berperan dalam proses inhibisi. Pengaruh variasi konsentrasi dapat menurunkan laju korosi akan tetapi laju korosi meningkat dengan meningkatnya variasi temperatur. Hasil studi termodinamika menunjukkan proses inhibisi merupakan proses adsorpsi fisik dan berlangsung spontan.

DAFTAR PUSTAKA

- Davis, J. R. 2000. *Corrosion Understanding The Basic*. Ohio: AIM International.
- Revie, R. W. 2011. *Uhlig's Corrosion Handbook*. Canada: John Wiley & Sons, Inc.
- Pradityana, A. 2013. Application of Myrmecodia Pendans Extract as Green Corrosion Inhibitor for Mild Steel in 3,5% NaCl Solution. Proceeding of ICOMC conference. Vol. 45 (3): 684-690.
- Murthy, P. S. dan Naidu, M. M. 2012. *Sustainable management of coffee industry by-products and value addition A review*. Resources, Conservation and Recycling vol.66 (1): 45-58.
- Dence, C.W. 1992. *Methods In Lignin Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag.
- Altwaïq, A., Khouri, S. J., Al-luaibi, S., Lehman, R., Drücker, H., dan Vogt, C. 2011. *The Role of Extracted Alkali Lignin as Corrosion Inhibitor*. J. Mater. Environ. Sci. Vol. 2 (3): 259-270.
- Alaname, K. K. dan Olesgun, S. J. 2012. *Corrosion Inhibition Performance of Lignin Extract of Sun Flower (Tithonia Diversifolia) on Medium Carbon Low Alloy Steel Immersed in H₂SO₄ Solution*. Leonardo Journal of Sciences. Vol. 20 (1): 59-70.
- Stephen, Y., dan Carlton, W. 1992. *Methods in Lignin Chemistry*. London: Springer-Verlag.
- Sastri, V.S. 2011. *Green Corrosion Inhibitors Theory and Practice*. Canada: John Wiley & Sons, Inc.
- Olasehinde, E. F., Adesina, A. S., Fehintola, E. O., Badmus, B. M., dan Aderibigbe, A. D. 2012. Corrosion Inhibition Behaviour for Mild Steel by Extracts of Musa sapientum Peels in HCl Solution: Kinetics and Thermodynamics Study. IOSR-JAC. Vol. 2 (1): 15-23.

Pengaruh Ion Co^{2+} , Fe^{3+} Dan Na^+ Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Dari Isolat Bakteri Selulolitik (*Bacillus subtilis* Strain SF01) Asal Limbah Ampas Tebu

Yehezkiel Billy Oentoro, Revonandia Irwanto, Emi Sukarti, Henry Kurnia Setiawan, Lanny Hartanti*

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

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

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ion logam Co^{2+} , Fe^{3+} dan Na^+ terhadap aktivitas enzim selulase asal bakteri *Bacillus subtilis* strain SF01. Selulase diproduksi dengan fermentasi isolat bakteri pada media NB + CMC 1% selama 21 jam. Kadar enzim ditentukan dengan metode Bradford dan pembeding Bovine Serum Albumin. Aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0, 60oC selama 45 menit. Gula pereduksi yang dihasilkan diuji secara spektrofotometri dengan metode asam 3,5-dinitrosalisilat dan pembeding glukosa. Pengaruh ion logam ditentukan dengan menginkubasi enzim dan larutan ion logam berbagai konsentrasi selama 20 menit sebelum reaksi enzim substrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ion Co^{2+} meningkatkan aktivitas spesifik enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 secara bermakna (One way anova, post hoc Tuckey HSD, $\alpha=95\%$), ion Fe^{3+} tidak memberikan efek, sedangkan ion Na^+ menurunkan aktivitas spesifik enzim.

Kata Kunci : *Bacillus subtilis* SF01, selulase, ion logam, kobal, besi, sodium.

PENDAHULUAN

Berdasarkan penelitian terdahulu Susanto (2012) diketahui bahwa limbah ampas tebu menghasilkan isolat bakteri murni yang memiliki aktivitas selulolitik yang menghasilkan enzim selulase. Setelah dilakukan pengamatan makroskopis, mikroskopis, dengan dan tanpa pewarnaan, uji KIT dan karakterisasi biokimia, mikroorganisme penghasil enzim selulase disimpulkan termasuk dalam genus *Bacillus* (Sutanto, 2012). kemudian dilanjutkan analisis homologi gen penyandi 16S rRNA terhadap isolat tersebut dengan melakukan isolasi DNA kromosom dan amplifikasi gen penyandi 16S rRNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ada kemiripan homologi dari bakteri selulolitik asal ampas tebu tersebut dengan *Bacillus subtilis* strain B7 dengan persentase homologi 99% dan dengan demikian isolat bakteri asal ampas tebu tersebut dengan isolat *Bacillus subtilis* Strain SF01 (Ariputri, 2014). Meskipun pada penelitian tersebut mengatakan kemiripan homologi yang dekat antara bakteri selulolitik asal ampas tebu dengan *Bacillus subtilis* strain B7 dengan persentase homologi 99% (Ariana, 2014), tidak menutup kemungkinan adanya perbedaan antara *Bacillus subtilis* strain SF01 dan *Bacillus subtilis* strain B7 yang dapat menjadi ciri khas dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01.

Beberapa penelitian menemukan pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim selulase yang dapat meningkatkan ataupun menurunkan aktivitas enzim selulase, ada juga yang mengatakan bahwa ada pula ion logam yang tidak memberikan efek yang signifikan

terhadap aktivitas enzim selulase. Contohnya ion-ion seperti Fe^{3+} , CO^{2+} , Na^+ dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase. Namun tidak semua ion logam memiliki efek yang sama terhadap satu enzim dan enzim yang lain, seperti yang sudah dibuktikan oleh penelitian-penelitian dan yang sudah ditulis di beberapa jurnal. Ion Na^+ tidak mempengaruhi aktivitas dari enzim selulase (Yin *et al.*, 2010). Ion logam lainnya yang dapat berfungsi meningkatkan aktivitas enzim selulase adalah CO^{2+} dan Fe^{3+} (Padilha, *et.al*, 2014).

Maka pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh ion Fe^{3+} , CO^{2+} dan Na^+ terhadap aktivitas enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 yang biasa terkandung dalam reagen atau bahan-bahan yang digunakan dalam proses produksi dan purifikasi enzim selulase terhadap enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01. Dengan demikian diharapkan dapat diperoleh informasi yang dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan pada pemilihan bahan-bahan untuk proses purifikasi atau aplikasi enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri selulolitik kode SF01 dari isolat bakteri asal limbah ampas tebu dari penelitian sebelumnya (Sutanto, 2012). Media *nutrient agar* (Merck), media *nutrient broth* (Merck), carboxymethyl cellulose (for pharmaceutical), asam 3,5-dinitrosalisilat (Sigma), fenol, sodium potasium tartrat, sodium metabisulfit, glukosa monohidrat (Sigma), buffer universal yang

mengandung (asam sitrat, potasium fosfat, sodium tetraborat, Tris, potasium klorida, bahan dari Merck atau Sigma), NaOH, HCl, etanol 96% (teknis), akuades, air steril kualitas I (resistivity 18,2 MΩ cm (mQ)), garam-garam klorida berbagai logam: FeCl₃; CoCl₂; NaCl (Merck Darmstadt), bovine serum albumin (Sigma).

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: spektrofotometer Shimadzu UV-1201 /UV-160, mikropipet Socorex berbagai volume, pH-meter Fisher Accumet Model 230A pH / ion meter, timbangan analitik Denver Instrument M220, Inkubator Memmert Model 400, termometer, labu takar berbagai volume, homogenizer (Labinco L 46), autoklaf TOMI, shaker incubator (Gerhardf), sentrifus dingin, lemari es (Sharp Matrix), penangas air (Gemmyco YCW-010), microtubes, tips berbagai ukuran, laminar air flow dan alat-alat gelas pendukung lainnya.

Produksi Enzim Selulase

Diambil 1 mL dari inokulum isolat bakteri *Bacillus subtilis* Strain SF01 kemudian diinokulasikan secara aseptis ke dalam media produksi 100 mL (NB + CMC 1%) steril. Setelah itu, wadah yang berisi media dan inokulum tersebut dimasukkan kedalam shaker incubator pada 37 °C, dan diagitasi dengan kecepatan 150 rpm selama 21 jam. Kemudian suspensi sel disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Kemudian dipisahkan antara pelet (dibuang) dan supernatan yang digunakan untuk pengujian kadar enzim dan pengujian aktivitas enzim dengan penambahan ion logam.

Pembuatan Blanko Enzim

Pipet 300 µL dapar universal ditambah 100 µL substrat (CMC 1%) ke dalam tube kocok homogen dengan vortex dan diinkubasi pada suhu 60 °C selama 45 menit. Setelah itu pipet 200µL masukkan ke tube baru dan tambahkan larutan DNS sebanyak 1200 µL, vortex ad homogen kemudian dididihkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit, lalu dinginkan dalam air es selama 20 menit. Gunakan sebagai auto zero dengan panjang gelombang terpilih pada λ 550 nm.

Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase

Pipet 300 µL larutan enzim asal isolat *Bacillus subtilis* SF01 ditambah 100 µL dapar universal ke dalam tube kocok homogen dengan vortex dan diinkubasi pada suhu 60 °C selama 45 menit. Setelah itu pipet 200µL masukkan ke tube baru dan tambahkan larutan DNS sebanyak 1200 µL, vortex ad homogen kemudian dididihkan ke dalam penangas air mendidih selama 15

menit, lalu dinginkan dalam air es selama 20 menit. Kemudian dilakukan pengukuran aktivitas enzim menggunakan spektrofotometri pada λ 550 nm menggunakan persamaan garis linier $y = a + bx$, dengan ketentuan: $y = \text{absorbansi (A)}$; $x = \text{kadar glukosa (ppm)}$; $b = \text{slope}$; $a = \text{intercept}$.

Aktivitas enzim ditentukan dengan rumus (Ayuningtyas, 2008):

Dengan keterangan:

U : aktivitas enzim (Unit/mL)

X : kadar glukosa (µg/mL)

FP : faktor pengenceran

BM : berat molekul glukosa

Penentuan Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Selulase

Pipet 300 µL larutan enzim asal isolat *Bacillus subtilis* SF01 ditambah 100 µL larutan ion logam masing – masing konsentrasi 0,1 mM; 0,5 mM; 1 mM; 5 mM; 10 mM ke dalam tube kocok homogen dengan vortex dan diinkubasi pada suhu 60 °C selama 20 menit. Setelah itu ambil sebanyak 300µL masukkan ke tube baru dan tambahkan substrat CMC 1% sebanyak 100 µL vortex ad homogen kemudian inkubasi pada suhu 60 °C selama 45 menit. Kemudian pipet sebanyak 200 µL tambahkan larutan DNS sebanyak 1200 µL, vortex ad homogen kemudian dididihkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit, lalu dinginkan dalam air es selama 20 menit. Kemudian dilakukan pengukuran aktivitas enzim menggunakan spektrofotometri pada λ 550 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

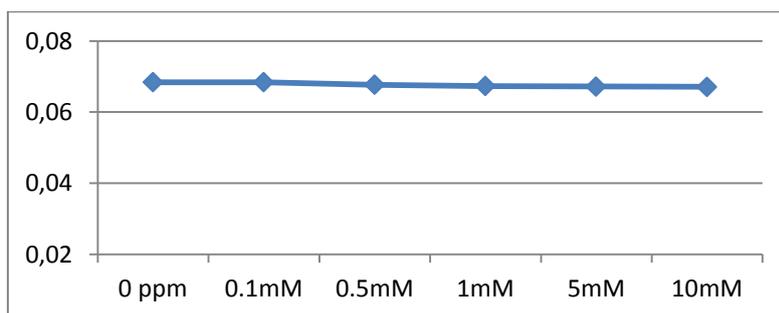
Pada beberapa penelitian ditemukan bahwa ion logam CO^{2+} dan Fe^{3+} yang dapat menjadi aktivator adalah (Padilha, *et.al*, 2014). Sedangkan pada penelitian lainnya mengatakan bahwa CO^{2+} berfungsi sebagai aktivator sedangkan Fe^{3+} berfungsi sebagai inhibitor (Yin, *et.al*, 2010). Pada artikel lain ditemukan bahwa ion logam Fe^{3+} berfungsi sebagai inhibitor (Li, *et.al*, 2006).

Pada tabel 1.1. dan gambar 1.1 hasil aktivitas spesifik tersebut dalam rentang konsentrasi 0.1 hingga 10Mm dapat dilihat bahwa ion logam Fe^{3+} menunjukkan profil kurva aktivitas spesifik yang menurun disbanding dengan konsentrasi 0ppm, hal tersebut menunjukkan bahwa Fe^{3+} berfungsi sebagai inhibitor terhadap enzim selulase. Namun, hasil statistic dengan metode oneway annova menunjukkan bahwa tidak ada nya perbedaan bermakna. Sehingga dapat dikatakan bahwa ion logam Fe^{3+} tidak memberikan efek yang signifikan terhadap enzim selulase tersebut.

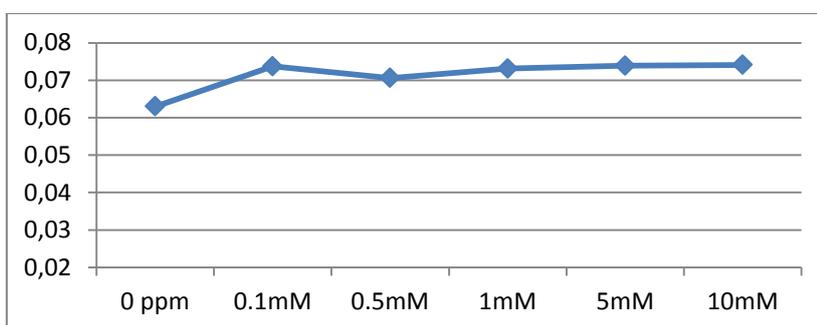
Tabel 1.1. tabel aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion logam

konsentrasi (mM)	Aktivitas Spesifik (U/mg)		
	Fe ³⁺	Co ²⁺	Na ⁺
0	0.0684 ± 0.0013	0.0630 ± 0.0048	0.0864 ± 0.0062
0.1	0.0684 ± 0.0024	0.0737 ± 0.0033	0.0675 ± 0.0009
0.5	0.0677 ± 0.0019	0.0706 ± 0.0019	0.0669 ± 0.0022
1	0.0673 ± 0.0010	0.0731 ± 0.0020	0.0666 ± 0.0027
5	0.0672 ± 0.0022	0.0739 ± 0.0018	0.0660 ± 0.0043
10	0.0671 ± 0.0003	0.0741 ± 0.0023	0.0640 ± 0.0085

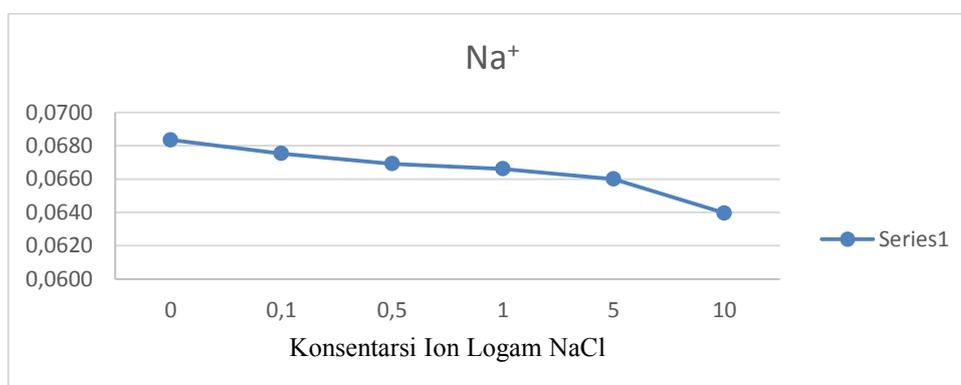
*replikasi dilakukan sebanyak 4 kali



Gambar 1.1. Grafik Kurva Aktivitas Spesifik ion Fe³⁺



Gambar 1.2. Grafik Kurva Aktivitas Spesifik ion CO²⁺



Gambar 1.3. Grafik aktivitas enzim dengan penambahan ion logam NaCl

Pada gambar 1.2 dapat dilihat bahwa ion logam selulase ini. Dilihat dalam rentang konsentrasi 0.1 CO²⁺ berfungsi sebagai activator terhadap enzyme hingga 10 memiliki aktivitas spesifik yang terus

meningkat dibandingkan dengan konsentrasi 0 ppm nya. Hasil tersebut juga didukung oleh hasil statistic dengan metode oneway annova yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada aktivitas spesifik tersebut dan dengan Tuckey menunjukkan bahwa konsentrasi 10Mm yang memiliki pengaruh paling besar terhadap aktivitas enzim selulase tersebut.

Pada gambar 1.3 hasil aktivitas spesifik tersebut dalam rentang kosentrasi 0.1 hingga 10Mm dapat dilihat bahwa ion logam Na^+ menunjukkan profil kurva aktivitas spesifik yang menurun dibanding dengan konsentrasi 0 ppm sehingga ion logam Na^+ dapat berfungsi sebagai inhibitor terhadap enzim selulase ini. Hasil tersebut juga didukung oleh data statistic dengan metode oneway annova yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada aktivitas spesifik enzyme selulase tersebut. Dapat dilihan bahwa konsentrasi 10Mm memiliki pengaruh yang signifikan terhadap 0 ppm dengan hasil statistic uji Tuckey.

KESIMPULAN

Ion logam Co^{2+} dapat meningkatkan aktivitas spesifik enzim selulase. Ion logam Fe^{3+} tidak memberikan efek pada aktivitas spesifik enzyme selulase. Ion logam Na^+ dapat menurunkan aktivitas spesifik enzim selulase.

DAFTAR PUSTAKA

- Gupta, P., Samant, K., & Sahu, A. (2011), Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential, *International Journal of Microbiology*, p. 1.
- Hartanti, L., Setiawan, H. K., & Sukarti, E. (2014a). Laporan Penelitian Analisis Homologi Gen 16S rDNA Isolat Bakteri Selulolitik. Surabaya.
- 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 Cellullase 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, Fakultas Farmasi, UKWMS, Surabaya, Halaman 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 Xilan dari Kulit Singkong dan Uji Reaktivitasnya Terhadap Enzim Endo – β - 1,4 Xilanase

Okky Santi. S, A. A. Istri Ratnadewi*, Wuryanti Handayani, Agung B. Santoso

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

*Email: dewi_pjw2003@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi xilan dari kulit singkong dan menguji aktivitas enzim endo – β - 1,4 xilanase terhadap xilan dari kulit singkong. Perlakuan pertama, kulit singkong dikurangi terlebih dahulu kandungan HCN dengan cara perendaman, pengukusan, dan penjemuran. Hasil penelitian menunjukkan kandungan kulit singkong berkurang menjadi 23,36 ppm. Kemudian sampel yang telah dihaluskan, dilakukan variasi perlakuan yakni didelignifikasi dan tanpa delignifikasi menggunakan larutan NaOCl 0,5%. Kemudian diekstraksi dengan variasi larutan NaOH yaitu 4%, 8%, dan 12%. Rendemen xilan dengan delignifikasi secara berturut – turut sebesar 9,8%, 11,5% dan 4,3%. Rendemen xilan tanpa delignifikasi secara berturut – turut sebesar 19,6%, 16,6%, dan 3,5%. Kemudian dihidrolisis dengan enzim endo – β - 1,4 xilanase. Proses hidrolisis dilakukan pada suhu 40°C dan diinkubasi selama 16 jam. Hasil hidrolisis ditentukan konsentrasi gula reduksi total. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi gula reduksi total pada xilan dengan delignifikasi dan tanpa delignifikasi secara berturut – turut sebesar 0,277mg/ml dan 0,485 mg/ml, sehingga xilan kulit singkong berpotensi sebagai substrat enzim endo – β - 1,4.

Kata Kunci : delignifikasi, ekstraksi, kulit singkong, xilan, xilanase

PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot utilissima Pohl*) merupakan salah satu sumber karbohidrat lokal Indonesia yang menduduki urutan ketiga terbesar setelah padi dan jagung (Prabawati, 2011). Singkong merupakan tanaman perdu yang berasal dari benua Amerika, tepatnya dari negara Brasil. Produktivitas singkong di Indonesia sebesar 22.677.866 ton, sedangkan di Jawa Timur produktivitas singkong mencapai 5 juta ton (Badan Pusat Statistika, 2012). Setiap bobot singkong akan menghasilkan kulit singkong sebesar 16% dari bobot tersebut (Hidayat, 2009), sehingga apabila dihitung kulit singkong di Jawa Timur pada tahun 2012 mencapai 800.000 ton. *Total Digestible Nutrient* (TDN) dan *nutrient* dalam kulit singkong yaitu TDN 74,73%, protein 8,11%, serat kasar 15,20%, hemiselulosa 2,48%, lemak kasar 1,29%, kalsium 0,63, dan fosfor 0,22% (Adriani *et al.*, 2012).

Hemiselulosa merupakan polisakarida terbanyak kedua di alam setelah selulosa. Komponen utama hemiselulosa adalah xilan (Da Silva *et al.*, 2007). Xilan merupakan hemiselulosa yang merupakan polimer dari pentose dengan ikatan β -1,4 yang jumlah monomernya berkisar 150- 200 unit (Sunna & Antranikian, 1997; Richana *et al.*, 2007). Komponen xilan juga ditemukan pada limbah–limbah pertanian seperti dedak gandum (12,3%), bagas tebu (9,6%) dan sekam padi (12,1%) (Richana *et al.*, 2004). Xilan merupakan substrat dari enzim xilanase (Collins *et al.*, 2005). Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa yakni xilan. Jenis – jenis xilanase yaitu endoxilanase, eksoxilanase, dan β -xilidase (Richana, 2002). Xilanase ditemukan

di tanaman, bakteri, dan jamur dengan berat molekul berkisar 16 – 40 kDa. Xilanase dihasilkan dari jamur *Aspergillus* dan *Trichoderma*, sedangkan dari bakteri yaitu bakteri *Bacillus* dan *Clostridium* (Trismillah & Waltam, 2009). Enzim ini dapat menghidrolisis ikatan glikosida dengan posisi β -1 \rightarrow 4 secara acak pada rantai utama xilan untuk menghasilkan xilooligosakarida (Richana *et al.*, 2002). Xilanase selama memproduksi xilo-oligosakarida juga memproduksi xilosa sebagai produk samping (Jiang *et al.*, 2004).

Ekstraksi xilan telah dilakukan oleh Richana *et al.*, (2007) dengan modifikasi metode dari Yoshida *et al.*, (1994). Richana berhasil mengekstraksi xilan dari limbah pertanian yaitu limbah tongkol jagung. Xilan yang didapat diuji dengan Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT) dengan kadar xilan yang diperoleh sebesar 12,95%. Ekstraksi xilan dari tongkol jagung juga dilakukan oleh Anggraeni (2003). Anggraeni (2003) melakukan variasi metode ekstraksi yakni menggunakan metode ekstraksi netralisasi dan asidifikasi. Xilan yang memiliki kemurnian lebih tinggi dihasilkan dari metode ekstraksi asidifikasi dengan menggunakan uji kualitatif $ZnCl_2$ dan I_2 . Tujuan penelitian ini adalah mengekstraksi xilan dari kulit singkong dan mengetahui reaktivitasnya terhadap enzim endo- β -1,4-D-xilanase.

METODE PENELITIAN

Bahan

Kulit singkong, xilosa (Japan), NaOH (E – Merck), Etanol (E-Merck), HCl (E- Merck), Asam sitrat (E-Merck), Na_2HPO_4 (E- Merck), $KNaTartrat$ (E- Merck), Asam 3,5-dinitrosalisilat (E-Merck), Fenol (E – Merck),

Na₂SO₃ (E- Merck), Asam pikrat (E – Merck), Natrium Karbonat (E- Merck).

Pengurangan Asam Sianida (HCN) pada Kulit Singkong

Pengurangan asam sianida pada kulit singkong mengikuti metode yang dilakukan oleh Nebiyu & Getachew (2011); Purwanti (2005) dan Tewe, (1984). Kulit singkong yang sudah dipotong kecil – kecil, dibersihkan dengan air. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah pengurangan kandungan HCN. Kulit singkong direndam dengan air selama 3 -5 hari. Setelah perendaman, kulit singkong dimasukkan ke dalam air yang mendidih selama 25 menit. Kemudian kulit singkong dikeringkan dengan oven sampai berat konstan. Kulit singkong yang sudah kering, ditentukan kadar HCN (Nebiyu & Getachew, 2011 ; Purwanti, 2005 ;Tewe, 1984).

Pengukuran kadar HCN dilakukan dengan cara kertas pikrat direndam ke dalam 500 mg sampel yang telah ditambahkan 1 mL akuades selama 30 menit. Kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Larutan blanko yang digunakan yakni asam pikrat direndam ke akuades tanpa sampel. Kadar HCN total dihitung sebagai HCN total (ppm) = 396 x absorbansi (Nebiyu & Getachew, 2011).

Delignifikasi dan Ekstraksi Xilan dari Kulit Singkong

Delignifikasi dan Ekstraksi Xilan dari Kulit Singkong mengikuti metode yang dilaporkan oleh Anggraini, (2003); Richana *et al.*, (2007); Samanta *et al.*, (2013). Pada penelitian ini, melakukan dua variasi yakni ekstraksi xilan dengan delignifikasi (penghilangan lignin) dan tanpa delignifikasi. Langkah yang pertama, kulit singkong dihaluskan. Bubuk kulit singkong direndam dengan larutan NaOCl 0,5% pada suhu 28^oC selama 5 jam. Kemudian dibilas dengan akuades dan disaring. Padatan dikeringkan di oven dengan suhu 50^oC sampai berat konstan.

Sampel yang telah didelignifikasi dan tanpa didelignifikasi direndam dalam larutan NaOH 4%, 8%, dan 12% selama 24 jam pada suhu 28^oC dan kemudian disentrifus. Supernatant yang dihasilkan diukur pH-nya. Kemudian supernatant dinetralkan dengan menambahkan tetes demi tetes HCl 6 N dan disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi dipisahkan dengan cara dekantasi. Kemudian supernatant ditambahkan etanol 95% dengan perbandingan 1:3 (supernatant : etanol) dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 65^oC.

$$\% EX = (W_a \times 100) / W_t$$

Di mana:

EX : Ekstrak Xilan

W_a : berat kering xilan yang diekstraksi (g)

W_t : berat sampel (g)

Penentuan Total Gula Pereduksi

Substrat (xilan) sebanyak 0,1 gram dilarutkan ke dalam 10 mL buffer fosfat sitrat pH 5. Larutan substrat 1% (b/v) diambil sebanyak 125 µl ditambahkan enzim endo-β-1,4-xilanase sebanyak 125 µl. Campuran enzim dan substrat diinkubasi selama 16 jam pada suhu 40^oC. Selanjutnya campuran enzim dan substrat ditambahkan larutan DNS sebanyak 750 µl. Kemudian dipanaskan pada suhu 100 °C dalam *water bath* selama 15 menit dan didinginkan dalam es selama 20 menit. Warna yang timbul diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Absorbansi yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva standar xilosa untuk mengetahui total gula reduksinya (Miller, 1959; Ratnadewi *et al.*, 2007):.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengurangan Kandungan Sianida (HCN)

Pada penelitian ini, langkah pertama yang dilakukan sebelum ekstraksi adalah mengurangi kandungan asam sianida (HCN). Pengurangan kandungan sianida dilakukan dengan cara perendaman dengan air (3 - 5 hari), perebusan dan pengeringan. Pemotongan kulit singkong menjadi ukuran yang lebih kecil juga mempercepat proses penguapan dan mempercepat pengurangan kandungan sianida pada kulit singkong.

Proses perendaman, dapat menghilangkan 20% sianida bebas setelah 4 jam, meskipun ikatan sianida belum berarti berkurang. Perebusan dapat menghilangkan 90% sianida bebas dengan merusak enzim linamarase pada suhu 72^oC. Pada hari ke -3 kandungan HCN mengalami penurunan yang signifikan yakni 96,23 ppm dan 67,71 ppm. Pada hari ke -5, kandungan HCN menjadi 23,6 ppm. Menurut FAO, singkong dengan kandungan HCN 50 ppm masih aman dikonsumsi manusia.

Delignifikasi dan Ekstraksi Xilan

Pada penelitian ini dilakukan dua variasi yaitu ekstraksi xilan dengan delignifikasi dan tanpa delignifikasi. Delignifikasi adalah proses penghilangan lignin dimana terjadi pemecahan ikatan kovalen antara lignin dengan karbohidrat melalui pelarutan lignin (Anggraeni, 2003). Proses delignifikasi menggunakan pelarut NaOCl 0,5%. Pelarut NaOCl 0,5% menunjukkan rendemen tertinggi dan hanya sebagian kecil hemiselulosa yang terlarut (Richana *et al.*,2007). Setelah didelignifikasi selama 5 jam, rendaman dicuci dengan air dan dipisahkan. Padatan dioven pada suhu 50^oC sampai berat konstan.

Ekstraksi xilan dilakukan menggunakan larutan NaOH 4%, 8%, dan 12%. Sampel dengan delignifikasi dan tanpa delignifikasi direndam dalam larutan NaOH 4%, 8%, dan 12% selama 24 jam. Hemiselulosa larut dalam larutan alkali, sedangkan selulosa mengendap dalam kondisi alkali. Supernatant dinetralkan dengan menambahkan HCl, kemudian disentrifus. Supernatant yang dihasilkan ditambahkan etanol 95%

dengan perbandingan 1:3. Penambahan etanol bertujuan untuk mengendapkan xilan.

Terdapat dua variasi yaitu variasi pada delignifikasi dan variasi konsentrasi NaOH. Berdasarkan tabel di atas pada sampel dengan delignifikasi randemen terbesar pada konsentrasi NaOH 8% yakni 11,6%. Pada sampel tanpa delignifikasi randemen terbesar pada konsentrasi NaOH 4% yaitu 19,6%. Hal ini disebabkan sampel tanpa delignifikasi masih mengandung lignin yang ikut terekstrak sehingga nilai randemennya besar.

Penentuan Total Gula Reduksi

Setelah diperoleh ekstrak xilan, dilakukan analisis xilan dengan menentankan total gula reduksi. Enzim endo- β -1,4-xilanase ditambahkan substrat xilan yang didapat diinkubasi selama 16 jam pada suhu 40°C (optimum). Total gula reduksi merupakan keseluruhan produk gula reduksi yang dihasilkan dalam proses hidrolisis. Gula reduksi merupakan senyawaan gula yang memiliki gugus aldehid sebagai gugus pereduksi. Semakin banyak gula reduksi yang dihasilkan maka aktivitas enzim semakin besar. Sampel yang telah dihidrolisis ditambahkan DNS.

Tabel 1. Kandungan sianida (HCN) pada kulit singkong

Lama Penyimpanan (hari)	Perendaman (ppm)	Perebusan (ppm)
1	171,46	138,2
2	131,47	123,95
3	96,23	67,71
4	87,52	41,97
5	71,68	23,6

Tabel 2. Randemen Xilan dengan variasi konsentrasi NaOH

Konsentrasi NaOH (%)	Dengan Delignifikasi (%)	Tanpa Delignifikasi (%)
4	9,8	19,6
8	11,5	16,6
12	4,3	3,5
14	4	3,3

Gula reduksi (misal xilosa) yang terbentuk akan bereaksi dengan DNS yang berwarna kuning dan membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat (ANS) yang berwarna coklat. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi gula reduksi total pada xilan dengan delignifikasi dan tanpa delignifikasi secara berturut – turut sebesar 0,277mg/ml dan 0,485 mg/ml.

KESIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah sampel dengan delignifikasi randemen terbesar pada konsentrasi NaOH 8% yakni 11,6%. Pada sampel tanpa delignifikasi randemen terbesar pada konsentrasi NaOH 4% yaitu 19,6%. Konsentrasi gula reduksi total pada xilan dengan delignifikasi dan tanpa delignifikasi secara berturut – turut sebesar 0,277mg/ml dan 0,485 mg/ml. Sehingga xilan dari kedua sampel dapat digunakan sebagai substrat enzim endo- β -1,4-xilanase.

DAFTAR PUSTAKA

Adriani, Y., Sukaya, S., Ratu, S., & Abun, A. 2012. The Quality of Fermented Cassava Tuber Skin as

Herbivorous Fish Feed. *Lucrari Stiintifice – Seria Zootehnie*, Vol.57.

Anggraini, F. 2003. “Kajian Ekstraksi dan Hidrolisis Xilan dari Tongkol Jagung (*Zea mays L.*)”. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.

Collins, T., Gerday, C., & Feller, G. 2005. Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanase. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 29(1): 3-23.

Da Silva, A. E., Marcelino, H.R., Gomes, M.C.S., Oliveira, E.E., Nagashima, T., & Egito, E.S.T. 2007. Xylan, A Promising Hemicellulose for Pharmaceutical Use. *Products and Application Of Biopolymers*.

Hidayat, C. 2009. *Peluang Penggunaan Kulit Singkong Sebagai Pakan Unggas*. Bogor : Balai Penelitian Ternak.

Nebiyu, A., & Esubalew G. 2011. Soaking and Drying of Cassava Roots Reduced Cyanogenic Potential of Three Cassava Varieties at Jimma, Southwest Ethiopia. *World Journal of Agricultural Sciences* 7(4): 439 – 443.

Prabawati, S. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan dan Diversifikasi Pangan*. Bogor : Sinar Tani.

- Ratnadewi, A. A. I., Handayani, W., & Puspaningsih, N. N. T. 2007. Produksi dan Karakterisasi, Enzim β -Endoxilanase dari Bakteri Sistem Intestinal Rayap. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(2): 110-117.
- Richana, N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*, 5(1): 29-36.
- Richana, N., Irawadi, T. T., Nur, M. A., Sailah, I., Syamsu, K., & Arkenan, Y. 2007. Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung. *Jurnal Pascapanen*, 4(1): 38-43.
- Samanta, A. K., Jayanta N., Kolte A. K., Senani, S., Sridhar, M., Mishra, S., Prasad, C. S., & Suresh K. P. 2013. Application of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) Stalks as Raw Material for Xylooligosaccharides Production. *Applied Biochemical Biotechnology*, 169: 2392-2404.
- Sunna, A dan G. Antranikian. 1997. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 17(1): 39-67.
- Tewe, O. 1984. Detoxification of Cassava Products and Effects of Residual Toxins on Consuming Animals. *Roots, Tubers, Plantians and Bananas in Animal Feeding*.
- Trismilah., & Waltam, R. D. 2009. Produksi Xilanase Menggunakan Media Limbah Pertanian dan Perkebunan. *J. Tek. Ling Vol. 10 No.2 Hal. 137 – 144*.
- Yoshida, S., Satoh, T., Shimokawa, S., Oku, T., Ito, T., & Kusakabe, I. 1994. Substrate Specificity of *Streptomyces β -Xylanase* toward Glucoxylan. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 58(6): 1041-1044.

Studi Pengaruh Logam Aktif Mo Terhadap Karakteristik Dan Aktivitas Katalis Bimetal Mo-Ni/ZAAH Dalam Perengkahan Metil Ester Minyak Sawit

Riyan Cahyo Setiawan*, Donatus Setyawan Purwo Handoko, I Nyoman Adi Winata

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember
E-mail: ryan26_chemistry@yahoo.com

ABSTRAK

Zeolit sebagai katalisator memiliki peran penting dalam bidang perengkahan minyak sawit menjadi biofuel. Zeolit merupakan aluminosilikat yang banyak digunakan sebagai media pengemban dari logam aktif. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh logam Mo terhadap karakteristik dan aktivitas katalis Mo-Ni/ZAAH. Zeolit diaktivasi dengan HF 1%, diasamkan dengan HCl 2M dan NH₄Cl 2M dan dihidrotermal. Ni diimpregnasikan sebesar 2% dan Mo sebesar 0%, 1%, 2%, 3%, dan 4% b/b. Metil ester sebagai umpan diperoleh dari transesterifikasi minyak sawit. Reaktor yang digunakan jenis fixed bed dengan temperatur 450°C dan laju N₂ sebesar 20 mL/menit. Karakteristik katalis meliputi kandungan Na, rasio Si/Al dan kandungan Ni dan Mo dianalisa dengan Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS). Keasaman total katalis ditentukan secara gravimetri. Hasil perengkahan secara termal dan katalitik dianalisa menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Impregnasi logam Mo terbukti berpengaruh terhadap karakteristik dan aktivitas katalis. Aktivitas katalis yang lebih baik ditunjukkan oleh Mo2%-Ni/ZAAH.

Kata Kunci: Zeolit, Minyak Sawit, Perengkahan

PENDAHULUAN

Seiring perkembangan zaman yang semakin maju, konsumsi terhadap energi juga semakin besar yang menyebabkan cadangan minyak bumi semakin menipis. Menurut Kementerian Luar Negeri Republik Indonesia (2012), proporsi minyak bumi sebagai sumber utama energi saat ini telah mencapai 40% dari total permintaan energi dunia. Kondisi ini telah mendesak dilakukannya penelitian secara eksploratif untuk menemukan potensi energi baru dan terbarukan.

Minyak kelapa sawit merupakan salah satu minyak nabati yang tersedia di alam dalam jumlah yang masih sangat cukup besar. Minyak sawit telah berhasil dikonversi menjadi *biodiesel* melalui transesterifikasi. Bahkan Dermibas (2003) menyatakan bahwa metil ester minyak sawit hasil transesterifikasi dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar ramah lingkungan dengan melakukan perengkahan metil ester menjadi hidrokarbon rantai pendek. Konversi minyak nabati menjadi bahan bakar telah dinyatakan efektif dengan menggunakan zeolit sebagai katalisator.

Zeolit memiliki situs asam Bronsted dan Lewis sehingga bertindak sebagai katalis asam. Jenis katalis untuk perengkahan adalah *metal supported catalyst* yang terdiri atas logam yang diemban pada pengemban padat seperti zeolit. Menurut Satterfield (1980), logam transisi seperti Ni mampu membentuk senyawa intermediet dengan reaktan dan menurunkan energi aktivasi reaksi. Impregnasi logam transisi dengan orbital d yang belum terisi penuh mampu meningkatkan keasaman dari zeolit (Sudiono *et al.*, 2005). Impregnasi logam dengan jumlah berbeda akan menghasilkan karakter katalis yang berbeda.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh logam Mo yang diimpregnasikan secara bervariasi terhadap karakteristik dan aktivitas katalis bimetal Mo-Ni/ZAAH. Triyono *et al.* (2010), menjelaskan bahwa logam Ni dan Mo yang diimpregnasikan ke dalam ZAAH dianggap memiliki karakter yang baik sebagai katalis. Penentuan karakteristik katalis dalam penelitian ini meliputi kandungan Na, Ni dan Mo, rasio Si/Al, dan keasaman total katalis. Aktivitas katalis ditentukan berdasarkan data GC-MS hasil perengkahan metil ester minyak sawit.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: zeolit alam Wonosari dari PT. Prima Zeolita, Minyak Sawit (Filma), HCl 32% (Merck), HF 55% (Merck), Ni(NO₃)₂·6H₂O (Merck), NH₄Cl (Merck), (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (Merck), gas O₂ (Samator Gas), gas N₂ (Samator Gas), indikator pH universal, NH₃ pa 25% (Merck), akuades, metanol pa (Smart Lab) dan NaOH pa (Merck).

Preparasi Katalis Mo-Ni/ZAAH

Zeolit ukuran 100 mesh dicuci dengan akuades. Zeolit direndam dengan HF 1 % selama 30 menit dan dicuci kembali dengan akuades lalu dioven pada 120°C selama 3 jam. Dikalsinasi dan dioksidasi pada 500°C selama 2 jam dengan laju alir N₂ dan O₂ sebesar 20 mL/menit. Lalu dicuci dengan HCl 2 M perbandingan zeolit:HCl = 1 : 2 (v/v) sambil diaduk selama 30 menit. Dicuci dengan akuades sampai pH 6 lalu dikeringkan dengan oven, setelah itu dikalsinasi dan dioksidasi kembali.

Selanjutnya direndam larutan NH_4Cl 2 M perbandingan 1 : 2 (v/v) dan dipanaskan selama 4 jam berpengaduk magnet pada 90°C . Selanjutnya dioven, kalsinasi dan oksidasi kembali. Sampel katalis juga dihidrotermal pada suhu 500°C selama 6 jam untuk memperoleh katalis ZAAH. Impregnasi logam dilakukan secara impregnasi basah. Sebanyak 9,91 gram $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 100 ml akuades, dilanjutkan penambahan 90,09 gram sampel katalis ZAAH. Diuapkan pada $80\text{--}90^\circ\text{C}$ dilanjutkan oven suhu 120°C untuk diperoleh katalis Ni2%/ZAAH. Logam Mo diimpregnasikan secara bervariasi ke katalis Ni2%/ZAAH sebesar 0%, 1%, 2%, 3% dan 4% b/b. Sejumlah 0; 2,57; 5,15; 7,3 dan 10,30 gram $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 20 ml akuades, dan dilanjutkan penambahan katalis Ni2%/ZAAH secara berurutan sebanyak 20 gram, 17,43 gram, 14,85 gram, 12,27 gram dan 09,30 gram. Diuapkan pada $80\text{--}90^\circ\text{C}$ dilanjutkan oven suhu 120°C selama 2 jam. Selanjutnya dikalsinasi dan dioksidasi kembali, maka diperoleh katalis Mo-Ni/ZAAH.

Analisa Karakteristik Katalis

Karakteristik katalis meliputi kandungan Na, Rasio Si/Al, persentase Ni dan Mo terimpregnasi dianalisa menggunakan AAS. Penentuan keasaman total katalis

dianalisa secara gravimetri yaitu cawan porselen berisi 0,5 gram zeolit dioven pada 120°C selama 2 jam, setelah itu didinginkan dalam desikator. Ditimbang massa hingga konstan (W). Cawan porselen dan zeolit dimasukkan ke dalam desikator vakum dan divakumkan. Desikator vakum dialiri gas amoniak pa 25% selama 24 jam kemudian ditimbang kembali (W_1). Berat amoniak yang teradsorpsi dalam sampel adalah sebagai berikut:

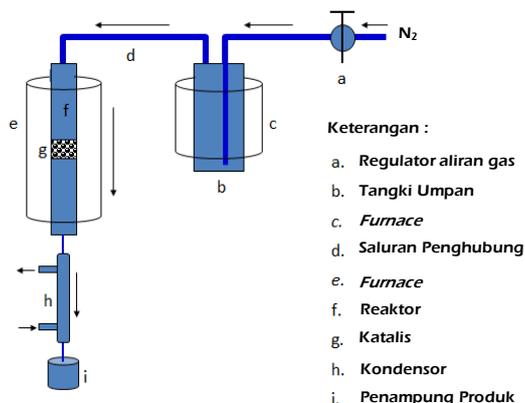
$$\Delta W = (W_1 - W) \text{ gram} \dots\dots(i)$$

Keasaman katalis didefinisikan sebagai jumlah mol NH_3 yang teradsorpsi ke katalis per gram berat. Persamaan untuk menghitung keasaman total katalis adalah:

$$\text{Keasaman} = (\Delta W) / (\text{BM } \text{NH}_3 \times (W)) \dots(ii)$$

Transesterifikasi Minyak Sawit

Sebanyak 24,5 ml metanol dicampurkan dengan 0,895 gram NaOH untuk selanjutnya ditambahkan ke dalam labu leher dua yang telah berisi 100 mL minyak sawit. Kemudian refluk selama 4 jam pada temperatur 60°C . Hasil reaksi didiamkan selama 2 jam dalam corong pisah. Fase ester dipisahkan dari fase gliserol. Ester yang diperoleh dicuci dengan akuades. Selanjutnya metil ester dipanaskan pada suhu $100\text{--}120^\circ\text{C}$.



Gambar 1. Rangkaian alat perengkahan

Perengkahan Metil Ester Minyak Sawit Menggunakan Katalis Mo-Ni/ZAAH.

Sebanyak 10 gram metil ester dimasukkan dalam tangki umpan dan sebanyak 4 gram katalis Mo-Ni/ZAAH berbagai variasi ditempatkan dalam kolom reaktor jenis *fixed bed*. Kolom reaktor dipanaskan hingga mencapai temperatur 450°C . Tangki umpan dipanaskan untuk menguapkan metil ester setelah kondisi temperatur di reaktor tercapai. Gas N_2 dialirkan dengan laju alir gas 20 mL/menit. Produk reaksi dilewatkan dalam sebuah kondensor dan ditampung fase cair dalam sebuah wadah. Perengkahan dihentikan setelah 30 menit. Hasil produk reaksi dari masing-masing variasi katalis dianalisa dengan GC-MS dan ditentukan aktivitas katalis berdasarkan data yang diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Na

Kandungan Na dalam katalis dianalisa untuk mengetahui jumlah pengotor Na yang dapat mempengaruhi kestabilan termal katalis. Kation Na dalam zeolit ditemukan dalam kondisi berinteraksi dengan muatan negatif Al pada kerangka zeolit. Berdasarkan hasil analisis dengan AAS diperoleh histogram pada gambar 2.

Hasil menunjukkan bahwa impregnasi Ni mampu menurunkan kandungan logam Na dalam zeolit melalui *ion exchange*. Namun impregnasi Mo justru meningkatkan kembali kandungan Na, hal ini dikarenakan garam $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ mengandung

Na dalam jumlah kecil, sedangkan kemampuan Mo dalam menggantikan Na lebih kecil dibandingkan Ni.

Keasaman Total Katalis

Penentuan keasaman katalis dilakukan secara gravimetri, yaitu dengan menentukan selisih berat katalis sebelum dan sesudah mengadsorpsi basa. Hasil perhitungan keasaman total katalis ditunjukkan oleh gambar 3.

Keasaman total katalis mengalami peningkatan seiring dengan semakin banyak jumlah logam yang diimpregnasikan. Katalis yang memiliki keasaman tertinggi yaitu Mo3%-Ni/ZAAH. Penurunan pada Mo 4% dimungkinkan karena adanya penutupan pori akibat jumlah Mo yang terlalu banyak, sehingga menyebabkan situs asam tidak dapat diakses. Logam Ni dan Mo mampu meningkatkan keasaman katalis namun menyebabkan penurunan luas permukaan (Triyono et al., 2010).

Rasio Si/Al

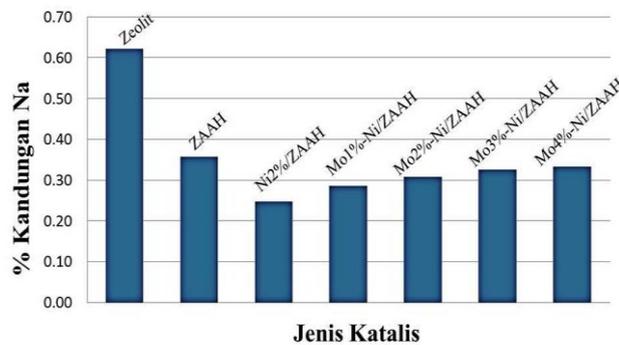
Hasil analisis AAS untuk kandungan logam Si dan Al digunakan untuk mengetahui rasio Si/Al, ditunjukkan oleh histogram pada gambar 4.

Gambar 4. Histogram rasio Si/Al

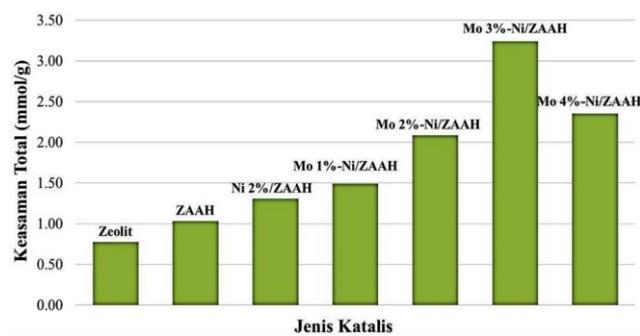
Rasio Si/Al meningkat pada katalis ZAAH. Hal tersebut karena perlakuan yang diberikan menyebabkan dealuminasi pada kerangka zeolit. Rasio Si/Al meningkat dari 2,54 menjadi 8,51 setelah terjadinya pengasaman dan hidrotermal mampu mendesak Al dari kerangka zeolit dan lepas sebagai Al^{3+} .

Persentase Ni dan Mo Terimpregnasi

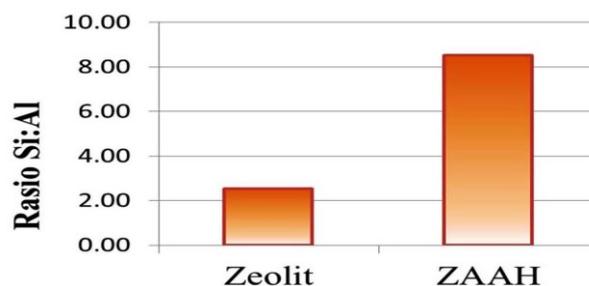
Persentase Ni dan Mo yang telah terimpregnasi ke dalam ZAAH dianalisa dengan AAS dan hasilnya ditunjukkan oleh gambar 5.



Gambar 2. Histogram kandungan Na



Gambar 3. Histogram keasaman total katalis



Gambar 4. Histogram rasio Si/Al

Logam Ni yang terembankan mengalami penurunan seiring peningkatan jumlah Mo yang terimpregnasi. Hal ini menunjukkan bahwa Mo dapat menggantikan Ni yang telah terembankan melalui *ion exchange*. Akan tetapi penurunan Ni relatif kecil. Atom Mo yang besar memiliki peluang lebih kecil untuk bisa melewati pori sehingga Mo cenderung terembankan di sisi terluar zeolit dan logam Ni yang tergantikan sedikit. Keberhasilan impregnasi Mo relatif kecil ditunjukkan oleh persen Mo terimpregnasi masih jauh dari jumlah persen Mo yang diimpregnasikan.

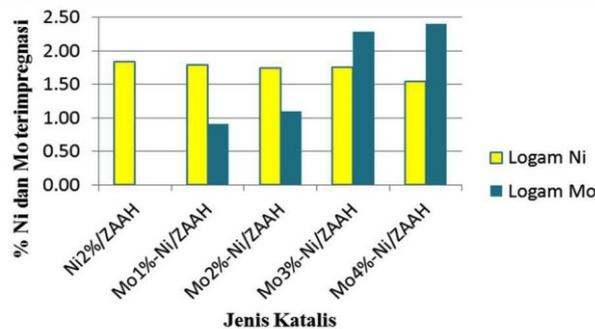
Hasil Transesterifikasi

Transesterifikasi berhasil mengubah minyak sawit menjadi gliserol dan metil ester. Metil ester yang diperoleh terdiri atas metil miristat, metil palmitat, metil

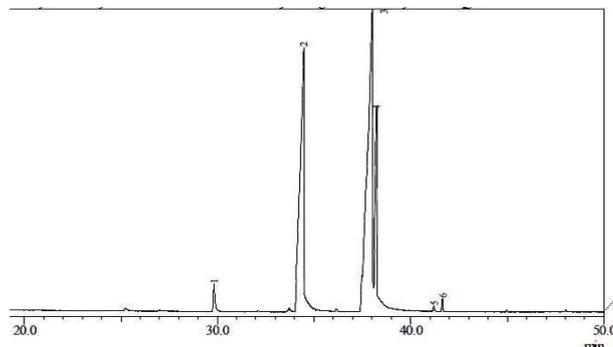
oleat, metil stearat dan metil eicosanoat. Dua puncak tertinggi pada gambar 6 adalah metil palmitat dan metil oleat sebagai komposisi terbesar. Hal ini sesuai dengan komposisi terbesar asam lemak dari minyak sawit adalah asam palmitat dan asam oleat (Ketaren, 1986).

Hasil Perengkahan Metil Ester Minyak Sawit

Berdasarkan data GC-MS diperoleh data tabel yang ditunjukkan oleh tabel 1. Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa perengkahan secara termal maupun katalitik menyebabkan perubahan terhadap konsentrasi reaktan. Metil miristat dan metil palmitat mengalami peningkatan konsentrasi akibat proses perengkahan, dan metil oleat dan metil stearat mengalami penurunan.



Gambar 5. Persentase Ni dan Mo terimpregnasi



Gambar 6. Kromatogram metil ester minyak sawit

Tabel 1. Perbandingan produk terhadap umpan

Nama Senyawa	Umpan Termal	Ni2%/ZAAH	Mo1%-Ni/ZAAH	Mo2%-Ni/ZAAH	Mo3%-Ni/ZAAH	Mo4%-Ni/ZAAH
Heksadekana	-	0.26	-	-	-	-
Heptadekana	-	-	0.37	0.39	-	-
Metil miristat	1.52 1.86	1.74	1.64	1.88	1.72	1.88
Metil palmitat	34.93 39	37.71	37.27	39.66	37.13	39.27
Metil oleat	50.24 49.71	49.83	50.37	48.24	50.79	49.31
Metil stearat	12.65 9.03	9.55	9.72	9.07	9.56	9.11
Metil linoleat	-	0.28	-	-	-	-
tidak teridentifikasi	-	0.22	0.22	0.44	0.35	-
Metil eicosanoat	0.45 0.41	0.4	0.41	0.33	0.46	0.43
Total	100 100	100	100	100	100	100

Hal ini menunjukkan bahwa terjadi pemutusan ikatan C-C sebanyak 2 karbon atau lebih di ujung rantai alkil pada molekul lebih besar yang menyebabkan konsentrasi molekul lebih kecil meningkat. Perengkahan termal menghasilkan gas C₂ sebagai produk mayor (Sadeghbeigi, 2000). Hasil perengkahan secara katalitik hampir sama dengan perengkahan termal. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas katalis kurang baik, dan terdapat banyak kokas pada katalis. Kokas terbentuk secara berlebihan menyebabkan deaktivasi katalis dan menghilangkan kemampuan katalis dalam menghasilkan produk baru yang lebih kecil. Akibatnya proses perengkahan cenderung hanya mengakibatkan perubahan konsentrasi metil ester, meskipun diperoleh heksadekana (C₁₆H₃₄) dan heptadekana (C₁₇H₃₆) sebagai produk baru. Lestari (2011) menyatakan bahwa kebanyakan katalis akan mengalami penurunan aktivitas secara tajam pada awal proses.

Katalis yang mampu menghasilkan produk baru berupa parafin lebih banyak dan perubahan konsentrasi yang lebih besar ditunjukkan oleh katalis Mo2%-Ni/ZAAH. Maka katalis tersebut dapat dikatakan memiliki aktivitas yang lebih baik.

KESIMPULAN

Impregnasi logam Mo pada katalis bimetal Mo-Ni/ZAAH menyebabkan peningkatan kandungan Na meskipun dalam jumlah kecil dan cenderung meningkatkan keasaman total dari katalis. Keberhasilan pada impregnasi Mo 2%, 3% dan 4% tidak cukup besar dan penggantian Ni oleh Mo relatif kecil. Rasio Si/Al zeolit meningkat dari 2,54 menjadi 8,51 setelah terjadinya dealuminasi akibat pengasaman dan hidrotermal. Aktivitas dari katalis Mo-Ni/ZAAH relatif

kecil akibat deposit kokas pada katalis, namun katalis yang lebih baik ditunjukkan oleh Mo2%-Ni/ZAAH.

DAFTAR PUSTAKA

- Dermibas, A. 2003. Fuel Conversional Aspect of Palm Oil and Sunflower. *Energy Sources J.* 5. 25. 154-167.
- Kementerian Luar Negeri Republik Indonesia. 2012. *Krisis Energi*. <http://kemlu.go.id/Pages/IssueDisplay.aspx?IDP=6&l=id>. [30 Agustus 2014].
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Lestari, D. Y. 2011. Kajian Tentang Deaktivasi Katalis. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sadeghbeigi, R. 2000. *Fluid Catalytic Cracking Handbook*. United State of America: Gulf Professional Publishing.
- Satterfield. 1980. *Heterogeneous Catalysis In Practice*. New York: Mc Graw-Hill Book Company.
- Setyawan P. H, D. 2013. *Konversi Metil Oleat Menjadi Rantai Hidrokarbon Rantai Lebih Pendek*. [Disertasi yang tidak terpublikasi pada Universitas Gadjah Mada].
- Sudiono, S., Trisunaryanti, W., and Triwahyuni, E. 2005. Preparation, Characterization and Modification of Ni-Pd/Natural Zeolite Catalyst. *Indo. J. Chem.* 5. 48-53.
- Triyono, Witanto, E., dan Trisunaryanti, W. 2010. Preparasi dan Karakterisasi Katalis Ni-Mo/Zeolit Alam Aktif. *Seminar Nasional VI*. ISSN 1978-0176.

Karakterisasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. BL) Transgenik Double Overekspresi gen *SoSPS1-SoSUT1* Generasi Kedua*)

Rachmita Rafikasari¹, ParawitaDewanti², Bambang Sugiharto^{1*}

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Jember
Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Email: sugiharto.fmipa@unej.ac.id

ABSTRAK

Sucrose Phosphate Synthase (SPS) merupakan enzim kuncian berperan penting dalam biosintesis sukrosa dalam tanaman. Sukrosa hasil biosintesis selanjutnya ditranslokasikan dari jaringan asal (source tissue) ke jaringan penyimpanan (sink tissue) oleh protein Sucrose transporter (SUT). Saat ini telah diperoleh tanaman tebu transgenik double over ekspresi *SoSPS1* dan *SoSUT1* generasi pertama yang memiliki kandungan enzim, protein dan sukrosa lebih tinggi dari kontrolnya. Salah satu kendala dalam perakitan tanaman transgenic adalah gen target tidak diwariskan ke generasi berikutnya. Melalui analisis PCR, gen target *SoSPS1* dan *SoSUT1* telah diwariskan pada generasi kedua. Gen tersebut juga dapat diekspresikan pada tingkat translasi dengan menghasilkan protein SUT dan enzim SPS yang lebih tinggi dan aktif secara fungsional. Hal tersebut dibuktikan dengan kandungan sukrosa batang dan daun pada tanaman tebu double overekspresi gen *SoSPS1-SoSUT1* rata-rata lebih tinggi daripada tanaman hasil transformasi single *SoSUT1* maupun tanaman tebu non-transformasi.

Kata Kunci: Tebu, Sucrose Phosphate Synthase, Sucrose transporter, stabilitas genetik, sukrosa batang.

PENDAHULUAN

Sukrosa merupakan produk utama fotosintesis yang dihasilkan dari proses asimilasi karbon di daun (Campbell *et al.*, 2000). *Sucrose Phosphate Synthase* (SPS) merupakan enzim kunci dan berperan penting dalam biosintesis sukrosa dalam tanaman tebu (Huber dan Huber, 1996). Enzim SPS mengkatalisis reaksi pada pembentukan *sucrose-6-phosphate* dari *uridine diphosphate glucose* dan *fructose-6-phosphate*. *Sucrose-6-phosphate* kemudian dihidrolisis oleh enzim *sucrose phosphate phosphatase* menjadi sukrosa (Anderson *et al.*, 1991).

Sukrosa hasil biosintesis selanjutnya ditranslokasikan dari jaringan asal (*source tissue*) ke jaringan penyimpanan (*sink tissue*) oleh protein *Sucrose transporter* (SUT). Protein SUT merupakan protein membrane sel yang diekspresikan oleh gen *SUT* (Riesmeier *et al.*, 1992). Protein tersebut berperan penting untuk memfasilitasi terjadinya translokasi sukrosa pada jaringan tanaman.

Gen *SoSPS1* tanaman tebu telah berhasil diisolasi (Sugiharto *et al.*, 1997) dan over ekspresi gen ini dapat meningkatkan aktivitas SPS dan kandungan sukrosa pada daun tanaman transgenic tembakau dan tebu (Sugiharto *et al.*, 2003; Miswar *et al.*, 2005). Hasil penelitian oleh Ningtyas (2013) telah diperoleh tanaman tebu yang telah ditransformasi dengan gen penyandi enzim *Sucrose Phosphate Synthase* dan protein *Sucrose Transporter*. Keberadaan gen *SoSPS1-SoSUT1* dalam tanaman tersebut juga telah dikonfirmasi dengan menggunakan analisis PCR. Sugiharto *et al.* (2008) menyebutkan overekspresi gen *SoSPS* dan *SoSUT* menyebabkan meningkatnya aktivitas enzim

SPS dan jumlah protein SUT. Hal tersebut menyebabkan sintesis sukrosa dan transportnya ke jaringan penyimpanan akan meningkat sehingga akumulasi sukrosa juga meningkat.

Hasil penelitian Widodo (2013) pada generasi pertama yang ditanam di greenhouse menyebutkan gen *SoSPS* dan *SoSUT* pada tanaman tebu hasil transformasi tersebut juga dapat diekspresikan pada tingkat translasi. Hal tersebut menghasilkan Protein SUT dan enzim SPS yang lebih tinggi dan aktif secara fungsional. Hal tersebut menyebabkan kandungan sukrosa batang dan daun pada tanaman tebu hasil transformasi rata-rata lebih tinggi daripada tanaman tebu non-transformasi.

Salah satu kendala dalam perakitan tanaman PRG adalah gen target tidak terintegrasi dengan stabil ke dalam kromosom tanaman inang sehingga gen tersebut tidak diwariskan ke generasi berikutnya (Christou *et al.*, 1991). Hasil analisis pada generasi pertama masih bersifat fluktuatif sehingga perlu dilakukan analisis stabilitas genetiknya pada generasi selanjutnya. Selain itu pada generasi kedua, tanaman double overekspresi gen *SoSPS1-SoSUT1* perlu ditanam pada media lapang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah gen yang diinsersikan dapat diwariskan pada tanaman generasi kedua dan mengetahui ekspresi gen *SoSPS1-SoSUT1* dalam hubungannya dengan akumulasi sukrosa pada tanaman tebu.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L. varietas BL) hasil *double*

overekspresigen *SoSPSI-SoSUTI* event 212bd(1), 33ab(2), 31a(3), 31c(4), 3.4(5), 212ba(6), 32b(7), 32a(8), 212 bd(9), 26bc(10), 31b(11), 32c(12), sut2(13) dan tanaman tebu non-transformasi sebagai kontrol (*wild type*). Tanaman generasi pertama dikecambahkan kemudian ditanam di media pot dengan tanah sebanyak 25 kg.

Analisis PCR

Isolasi DNA genom dilakukan seperti metode yang disebutkan oleh Zheng (1995). Master mix Solution dicampur dengan 1 µl primer forward, 1 µl primer reverse, 7µl ddH₂O dan 1 µl DNA sampel. Primer yang digunakan untuk konfirmasi gen *SoSPSI* adalah primer *nptII* (*the neomycin phosphotransferaseII gene*)-F (5'-GTCATCTCACCTTGCTCCTGCC-3'), primer *nptII*-R (5'-GTCGCTTGGTCGGTCATTTTCG-3') dengan ukuran ±550 bp sedangkan untuk mengetahui konfirmasi gen *SoSUTI* adalah primer *hptII* (*the higromycin phosphotransferaseII gene*)-F (5'-TCC TGC AAG CTC CGG ATG CCT C-3'), primer *hptII*-R (5'-CGT GCA CAG GGT GTC ACG TTG C-3') dengan ukuran ±490 bp. DNA yang teramplifikasi kemudian dianalisis dengan elektroforesis pada 1% gel agarose.

Penentuan Aktifitas Sukrosa Phosphate Synthase (SPS)

Aktivitas enzim SPS diuji dengan menggunakan metode seperti yang telah dilakukan oleh Sugiharto (1996). Untuk uji aktivitas enzim, supernatan hasil sentrifugasi

pada tahap ekstraksi protein terlarut dilewatkan dalam kolom kromatografi Sephadex-25. Larutan pereaksi mengandung 50mM MOP-NaOH (pH 7,5), 15mM MgCl₂ 10µl, 70 mM *fructose-6-phosphate* dan 10µl 70mM *uridine diphosphate glucose*, 10µl 70mM *glucose 6-phosphate*. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 70µl NaOH 0,5N dan divortekskemudian dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100°C. Jumlah sukrosa yang terbentuk selama reaksi ditentukan dengan metode recorcinol.

Pengukuran Kandungan Sukrosa Daun dan Batang

Ekstraksi sukrosa daun dilakukan dengan menggerus sampel dengan nitrogen cair kemudian diberi buffer MCW (Metanol : Cloroform : Water) dengan perbandingan 12 : 5 : 3. Hasil ekstraksi dikeringkan dengan rotary evaporator dan dilarutkan dengan air distilasi. Sedangkan untuk kandungan sukrosa batang, sukrosa diekstraksi dengan menggerus 2 gr batang tebu kemudian disentrifugasi. Kandungan sukrosa diukur dengan metode recorcinol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberhasilan transformasi genetik ditentukan oleh terintegrasinya gen target ke dalam genom tanaman. Hasil analisis PCR menunjukkan terdapat 99% tanaman positif transgenik *SoSPSI*. Hal itu ditunjukkan dengan terbentuknya pita fragmen DNA dengan



Gambar 1. Rangkaian alat perengkahan

ukuran ±550 bp (*SoSPSI*) dan ±490 bp (*SoSUTI*) (Gambar 1.) sesuai dengan panjang plasmid.

Gambar 1. Elektroforesis gel agarose 1% DNA hasil PCR dengan pasangan (a) primer *nptII*-F/R dan (b) primer *nptII*-F/R. Template DNA genom tanaman tebu transgenic *double over ekspresi* gen *SoSPSI-SoSUTI*; wt : control (*wild type*).

Terbentuknya pita DNA *nptII* dengan ukuran ±550 bp dan pita DNA *hptII* dengan ukuran ±490 bp menunjukkan bahwa gen target *SoSPSI* dan gen *SoSUTI* yang berada dalam satu kaset T-DNA bersama gen *nptII* dan gen *hptII* sebagai *selectable marker* telah terinsersi ke dalam genom tanaman. Hal tersebut berarti bahwa gen target telah diwariskan pada generasi setelahnya.

Aktivitas Enzim SPS (Sucrose phosphate Synthase)

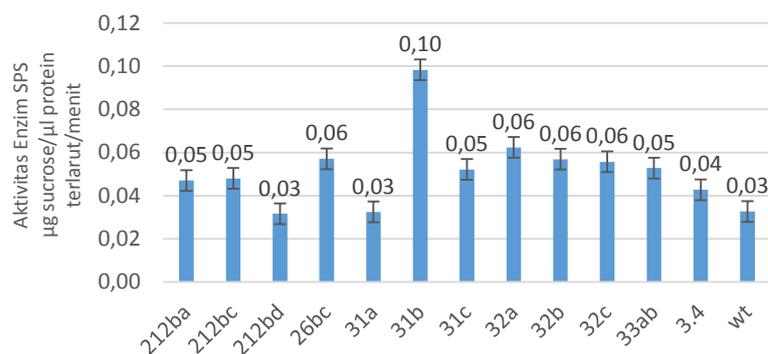
Hasil analisis aktivitas enzim pada tanaman tebu transgenic *double overekspresi SoSPSI-SoSUTI* generasi kedua menunjukkan bahwa terjadi

kenaikan 2-3 kali dibanding tanaman tebu non transforman (*wild type*) (Gambar 2).

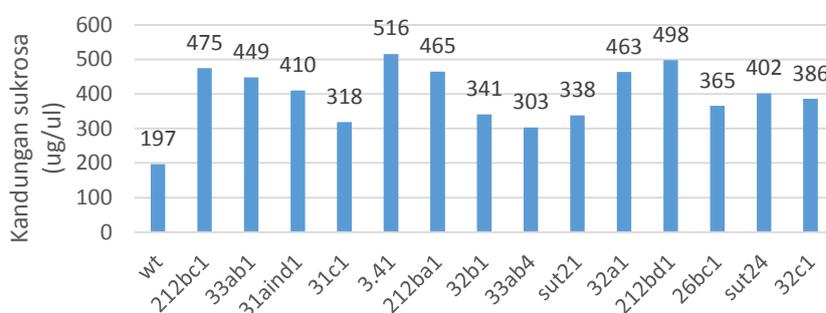
Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian oleh Widodo (2013) yang menunjukkan bahwa aktivitas enzim SPS pada tanaman tebu transgenic *double overekspresi SoSPSI-SoSUTI* generasi pertama lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanaman kontrol non-transformasi. Over ekspresi gen SPS dapat meningkatkan aktivitas SPS pada tanaman tebu (Sugiharto *et al.*, 2003) berkorelasi positif meningkatkan kandungan sukrosa (Sugiharto *et al.*, 1997).

Kandungan Sukrosa Daun dan Batang

Pada tanaman tebu biosintesis sukrosa dikatalisis oleh enzim SPS dan peningkatan aktivitas SPS berkorelasi positif peningkatan kandungan sukrosa (Sugiharto *et al.*, 1997) sedangkan peningkatan protein SUT menyebabkan peningkatan translokasi sukrosa dari daun (*source tissue*) ke organ penyimpanan (*sink tissue*) (Lamoine *et al.*, 2007).



Gambar 2. Peningkatan aktivitas enzim SPS (microgram sukrosa/ mikrogram protein/menit pada tanaman tebu transgenic *double over ekspresi* gen *SoSPSI-SoSUT1* dibanding tanaman kontrol (wt).



Gambar 3. Hasil analisis kandungan sukrosa (a) daun dan (b) batang pada tanaman tebu transgenic *double over ekspresi* gen *SoSPSI-SoSUT1* dibanding tanaman kontrol (wt).

Peningkatan translokasi sukrosa yang diikuti juga oleh peningkatan biosintesis sukrosa menyebabkan kandungan sukrosa pada daun dan batang tanaman tebu transgenic *overekspresi* gen *SoSPSI-SoSUT1* lebih tinggi daripada tanaman kontrol non-transformasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa gen target *SoSPSI-SoSUT1* pada tanaman tebu transgenic *double overekspresi* gen *SoSPSI-SoSUT1* telah diwariskan pada generasi berikutnya. Gen tersebut juga dapat diekspresikan pada tingkat translasi dengan menghasilkan protein SUT dan enzim SPS yang lebih tinggi dan aktif secara fungsional. Hal tersebut dibuktikan dengan kandungan sukrosa batang dan daun pada tanaman tebu *double overekspresi* gen *SoSPSI-SoSUT1* rata-rata lebih tinggi daripada tanaman *overekspresi single SoSUT1* maupun tanaman tebu non-transformasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh PT Perkebunan Nusantara XI dan MP3EI tahun 2012 atas nama Prof Bambang Sugiharto. Ucapan terimakasih disampaikan kepada semua pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. W. and Beardall, J. 1991. *Molecular Activities of Plant Cells. An Introduction to Plant Biochemistry*. Australia: Blackwell Scientific publications.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, dan L. G. Mitchell. 2000. *Biologi*. Jakarta: Erlangga.
- Christou, P., P. Vain., A. Kohli., M. Leech., j. Oard & S. Linscombe. 1992. Introduction of Multiple Genes Into Elite Rice Varieties. Evaluation of Transgenen Stability, Gene Expression and Field Performance of Herbicide-Resistant Transgenic Plant. *Annal of Botany*. Vol 77: 223-235.
- Huber, S. C., dan Huber. 1996. Role And Regulation Of Sucrose-Phosphate Synthase In Higher Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol, Plant Mol, Biol*. Vol. 47:431-444.
- Miswar, B. Sugiharto, J. Soedarson dan S. Moeljopawiro (2005). Transformasi gen *sucrose-phosphate synthase (SoSPSI)* tebu (*Saccharum officinarum L.*) untuk meningkatkan sintesis sukrosa pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*). *Berkala Ilmiah Biologi*. Vol 4(5):337-347.
- Ningtyas, H. M. 2012. *Karakterisasi Tanaman Tebu (saccharum officinarum l. Varbl) Transgenik Overekspresi Gen SoSUT1 event A-D*.

- Tidak dipublikasikan. Skripsi. Jember : Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Reismeyer, J. W., Willmitzer, L., Frommer, W. B. 1992. Isolation and Characterization of A Sucrose Carrier cDNA from Spinach by Functional Expression in Yeast. *The EMBO Journal*. Vol. 11: 4705-4713.
- Sugiharto B, Handoyo T, dan Sumadi, 1996. Variation and correlation in photosynthetic and sucrose metabolism enzymes in some genotype of sugarcane. *Zuriat*. Vol 7: 76-85.
- Sugiharto, B., H. Sakakibara, Sumadi, dan T. Sugiyama. 1997. Differential Expression of Two Genes for Sucrose Phosphate Synthase in Sugar Cane: Molecular cloning of the cDNAs and Comparative Analysis of Gene Expression. *Plant Cell Physiol*. Vol. 38: 961 – 965.
- Sugiharto, B., Miswar, U. Murdiyatmo. 2003. *Overekspresi gen sucrose-phosphate synthase untuk peningkatan biosintesis sukrosa pada tanaman tebu*. Laporan Akhir RUT VIII. Universitas Jember dan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 42p.
- Sugiharto, B., Slameto dan Dewanti, P. 2008. *Peningkatan Produksi Gula Melalui Overekspresi Gen SPS dan SUT pada Tanaman Tebu*. Laporan Penelitian Hibah Kompetensi. *Unpublished*.
- Widodo, Wimbuh T., 2013. *Aktivitas Sucrose Phosphate Synthase dan Sucrose Transporter serta Akumulasi Sukrosa pada Tanaman Tebu Transgenik Overekspresi Ganda Gen SoSPSI-SoSUTI*. Tidak dipublikasikan. Skripsi. Jember : Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Zheng, K., Huang, N., Bennet P., and Khush G. S. 1995. *PCR Based Marker Assisted Selection in Rice Breeding*. IRRI news lett 2.

Metode Ekstraksi Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Dengan Teknik Ultrasonik Untuk menghasilkan Obat Penyakit Kanker

Suharyanto ^{1)*}, Hartono¹⁾, Winarto Haryadi²⁾, Bambang Purwono²⁾

¹⁾Akademi Farmasi Nasional Surakarta

²⁾Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*E-mail : Suharyanto294@yahoo.com

ABSTRAK

Kanker dapat tumbuh dari jenis sel apapun dan di dalam jaringan tubuh manapun, dan bukanlah suatu penyakit tunggal tetapi merupakan sejumlah besar penyakit yang digolongkan berdasarkan jaringan dan jenis sel asal. Pengobatan medis menimbulkan efek samping yang serius. Kenyataan tersebut menuntut perlunya cara alternatif yang aman untuk memberantas kanker. Sarang semut(*Myrmecodia Pendans* Merr. & Perry) yang merupakan tanaman yang berasal dari Papua, mengandung senyawa Flavonoid, Tanin, dan Poliefenol yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh. Obat alternatif kanker diperoleh melalui ekstraksi Sarangsemut(*Myrmecodia Pendans*) dengan teknik Ultrasonik menggunakan metanol dengan berbagai variasi jumlah pelarut dan waktu ekstraksi, selanjutnya dilakukan partisi menggunakan butanol-air dengan perbandingan 1:1 Fraksi air diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Dari hasil penelitian menunjukkan untuk ekstraksi Ultrasonik dengan jumlah pelarut sebesar 10 kali berat sampel, waktu ekstraksi 50 menit dengan rendemen 14 % adalah kondisi optimal, sedang uji aktivitas antioksidan untuk fraksi air sebesar 47,50 ppm. Dari parameter ini ekstrak Sarangsemut (*Myrmecodia Pendans*) pada fraksi air berpotensi sebagai obat alternatif penyakit kanker.

Kata Kunci : Sarangsemut, Ultrasonik, IC₅₀, histopatologi

PENDAHULUAN

Seperti diketahui bersama kanker dapat tumbuh dari jenis sel apapun dan di dalam jaringan tubuh manapun, dan bukanlah suatu penyakit tunggal tetapi merupakan sejumlah besar penyakit yang digolongkan berdasarkan jaringan dan jenis sel asal. Setiap tahun dijumpai hampir 6 juta penderita baru yang diketahui mengidap kanker, dan lebih dari 4 juta diantaranya meninggal.. Separuh dari mereka yang terserang kanker, dan dua pertiga dari mereka yang meninggal akibat kanker, berada di negara berkembang. (Asmino,1985). Data Departemen Kesehatan menyebutkan, sekitar enam persen penduduk Indonesia menderita penyakit kanker. Kanker merupakan penyebab kematian ke-5 di Indonesia, setelah jantung, stroke, saluran pernafasan dan diare. Hingga kini pengobatan kanker dilakukan dengan dengan 3 cara yaitu: pembedahan, radiasi, dan dengan pemberian obat anti neoplastik atau anti kanker. Namun, ke-3 cara pengobatan diatas banyak memberikan efek samping kepada pasien seperti terjadi komplikasi, dan penekanan fungsi sumsum tulang. Kenyataan tersebut menuntut perlunya cara alternatif yang aman untuk memberantas kanker dengan menggunakan bahan alami, dimana bahan dasarnya menggunakan tanaman yang tumbuh di Indonesia. Salah satu yang berpotensi sebagai obat alami adalah tumbuhan sarang semut. Sarang semut yang merupakan tanaman asli Indonesia, mengandung senyawa *Flavonoid*, *Tanin*, dan *Poliefenol* yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh (Subroto, Ahkam dan Hendro Saputro, 2008). Kemampuan Sarang Semut

secara empiris untuk pengobatan berbagai jenis kanker/tumor tersebut diduga kuat berkaitan dengan kandungan flavonoidnya.

Suharyanto S (2010), telah melakukan uji daya antioksidan ekstrak sarang semut dengan metode DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sarang semut mempunyai IC₅₀ sebesar 92,39 ppm, artinya pada konsentrasi 92,39 ppm ekstrak sarang semut mampu menghambat radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Pada tahun 2012 Suharyanto,dkk telah melakukan Ekstraksi tumbuhan Sarangsemut dengan metode Maserasi. Secara invivo ekstrak Sarangsemut Fraksi Air diuji cobakan pada tikus putih yang telah terinduksi kanker Paru. Dari hasil penelitian dosis 750mg/kgBB ekstrak Sarangsemut (*Myrmecodia Pendans*) fraksi air dapat memperbaiki kondisi sel paru yang berpotensi untuk terserang kanker.

Qui Kim Tran (2007) dari *Universit National of Hochiminch City* menumbuhkan 3 sel kanker yang amat metastasis alias mudah menyebar ke bagian tubuh lain seperti kanker serviks, kanker paru, dan kanker usus. Masing-masing hasil ekstraksi itu lalu diberikan kepada setiap sel kanker. Hasilnya menakjubkan, seluruh ekstrak Sarang Semut menekan proliferasi sel tumor manusia.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Sarangsemut (*Myrmecodia Pendens*) yang digunakan berasal dari Papua Irian Jaya. Metanol yang digunakan untuk ekstraksi adalah teknis, sedang butanol yang

digunakan adalah PA untuk partisi sampel setelah diekstraksi. Reagen Uji Fitokimia yang diperlukan adalah untuk uji Flavonoid, Tannin dan alkaloid. DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) digunakan untuk uji Aktivitas Antioksidan

Persiapan sampel

Sampel berupa irisan umbi sarang semut yang telah dikeringkan. Ditimbang kurang lebih 1 kg simplisia sarang semut. Selanjutnya dilakukan penggerusan menggunakan alat gerus listrik. Dari penggerusan diperoleh serbuk sarang semut dengan ukuran tertentu.

Ekstraksi Ultrasonik

Ditimbang 4 seri sampel masing-masing seberat 40 gram, kemudian dimasukkan kedalam *Ultrasonic bath* dan ditambah Metanol seberat 6 kali berat sampel. Selanjutnya dilakukan ekstraksi ultrasonik dengan waktu 30, 40, 50 dan 60 menit. Dengan cara yang sama dilakukan dengan jumlah pelarut 8 dan 10 kali dengan waktu ekstraksi 30, 40, 50 dan 60 menit. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental dimasukkan kedalam corong pisah kemudian diekstraksi menggunakan campuran butanol-air dengan

perbandingan 1:1 sehingga akan terbentuk dua lapisan, lapisan atas dipisahkan (tidak dipakai), lapisan bawah (fraksi air) digunakan untuk uji selanjutnya.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan sebagai berikut: dibuat larutan fraksi air dengan konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk. Dari larutan induk dibuat seri larutan dengan konsentrasi 40,50,75,100 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 3 ml dan ditambah 2ml larutan DPPH 100 ppm. Selanjutnya diamati serapannya menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 515,5 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi ultrasonik disajikan dalam tabel 1. Dari tabel 1 dapat dinyatakan bahwa dengan jumlah pelarut 10 kali dengan waktu 50 menit dihasilkan rendemen yang paling besar. Sedangkan pada penelitian sebelumnya Suharyanto, 2012 dengan metode maserasi dengan waktu 5 hari atau 120 jam hanya dihasilkan rendemen 10%. Pada metode Maserasi pembukaan inti sel jauh kurang efektif dibanding metode Ultrasonik.

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan rendemen dengan teknik Ultrasonik

No. Waktu (mnt)	Perband. Smp.:Pelrt	Berat sampl. (gram)	Rendemen (%)
1. 30	1:6	2,6	6,5
2. 40	1:6	2,9	7,25
3. 50	1:6	3,4	8,5
4. 60	1:6	2,0	5,0
5. 30	1:8	4,0	10,0
6. 40	1:8	5,2	13,0
7. 50	1:8	5,2	13,0
8. 60	1:8	2,6	6,5
9. 30	1:10	2,3	5,75
10. 40	1:10	3,9	9,79
11. 50	1:10	5,6	14,0
12. 60	1:10	4,1	10,25

Tabel 2. Hasil pengukuran Aktivitas Antioksidan berbagai sampel

No. Waktu	Persamaan	IC ₅₀ (ppm)	Kesimpulan
1. 6/30	Y=0,126X + 10,50	313,492	lemah
2. 6/40	Y = 0.168X+12.16	225,239	lemah
3. 6/50	Y=0,440X -2,143	118,492	sedang
4. 6/60	Y=0,3X+ 31,51	61,630	kuat
5. 8/30	Y=0.114X+2.292	418,412	lemah
6. 8/40	Y=0.315X+11.25	123,0158	sedang
7. 8/50	Y=0.277X+29.7 6	73,0685	kuat
8. 8/60	Y=0.64X+6.645	67,7421	kuat
9. 10/30	Y=0,225X + 12,97	164,578	sedang
10. 10/40	Y=0,183X+21,15	157,650	sedang
11. 10/50	Y=0,173X+16,65	47,828	sangat kuat
12. 10/60	Y=0,093X+19,55	327,419	lemah

Perbedaan rendemen disebabkan adanya perbedaan waktu dan jumlah pelarut. Pada umumnya dengan pelarut besar dan waktu diperpanjang rendemen meningkat, akan tetapi pada titik tertentu dimana terjadi kejenuhan terjadi penurunan. Pada perbandingan pelarut 1:10 dengan waktu 60 menit terjadi penurunan rendemen hal ini dimungkinkan terjadi proses pelarutan pada titik jenuh.

Hasil aktivitas Antioksidan disajikan dalam tabel 2. Dari tabel 2 dapat dinyatakan bahwa sampel dengan waktu ekstraksi 50 menit dengan jumlah pelarut 10 kali memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan IC_{50} 47,828 ppm. Hal ini sesuai dengan optimasi waktu dan jumlah pelarut. Pada penelitian sebelumnya dihasilkan IC_{50} sebesar 37,5 ppm dengan metode Maserasi. Kedua metode menghasilkan aktivitas antioksidan yang sebanding sedang dari hasil metode ultrasonic memiliki rendemen jauh lebih besar dengan waktu yang sangat singkat.

KESIMPULAN

Perbandingan jumlah pelarut 1:10 dengan waktu ekstraksi 50 menit memiliki rendemen terbaik yaitu 14 % Pada jumlah perbandingan pelarut dan waktu ekstraksi yang sama memiliki IC_{50} tertinggi yaitu 47,828 ppm. Fraksi air tumbuhan Sarangsemut berpotensi sebagai obat antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada DITLITABMAS-DIKTI lewat Kopertis VI Jawa Tengah yang telah membiayai penelitian ini dalam skim Hibah Pekerti.

DAFTAR PUSTAKA

- Belleville-Nabet, F. 1996. "Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan dalam Sistem Biologis." dalam: *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan*. CFNS-IPB dan Kedutaan Besar Prancis-Jakarta.
- Demple, B. dan L. Harrison. 1994. *Annual Review Biochemistry*. 63: 915-948.
- Friedberg, E. C., G. C. Walker, dan W. Siede. 1995. *DNA Repair and Mutagenesis American society and Microbiology*. Washington DC.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Alih Bahasa: K. Padmawinata. ITB: Bandung.
- Hidaka, K., Matsuda, T. and Takea, T. 1999. "chemical studies on Antioxydant Mechanism of Curcuminoid: Analysis of Radical Reaction products from Curcumin, *Jurnal Agriculture and Food Chem*, Vol. 47.
- McCord, J. M. 1979. "Superoxide, Superoxide Dismutase and Oxygen Toxicity." dalam: *Reviews in Biochemical Toxicology*. E. Hodgson, J. R. Bend, R.M. Philpot (Eds.). Elsevier Amsterdam, the Netherlands. p. 109-124.
- Subroto, Ahkam dan Hendro, S. 2008. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Soeksmanto, A. 2010, *Pakistan Journal of Biological Science* 13 (3) :148-151, 2010
- Suharyanto, Siska 2010, *Uji Aktivitas Antioksidan Sarangsemut (Myrmecodia Penden) dengan Metode DPPH*, Akfarnas, Surakarta
- Suharyanto, Hartono, 2012 *Metode Ekstraksi Sarangsemut Dengan Teknik Maserasi Untuk Menghasilkan Obat Alternatif Kanker Paru*, Surakarta
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius: Yogyakarta.

Studi In-Vitro Potensi Antioksidan Dan Antidiabetes Dari Ekstrak Fenolik Daun Wuni (*Antidesma bunius*) Asal Taman Nasional Merubetiri

Susilowati^{1)*}, Tri Agus Siswoyo²⁾, dan A. A. Istri Ratnadewi¹⁾

¹⁾Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

²⁾Fakultas Pertanian; Universitas Jember

*Email: sisil.susilowaty30@gmail.com

ABSTRAK

Potensi ekstrak fenolik daun wuni sebagai antioksidan dan antidiabet dievaluasi secara In-Vitro dengan metode spektrofotometri. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini telah melewati tahapan ekstraksi bertingkat, sehingga didapatkan tiga macam ekstrak yang akan digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak heksana wuni (EHW), ekstrak etil asetat wuni ((EEAW), dan ekstrak metanol wuni (EMW). Satuan yang digunakan dalam analisis adalah total fenolik yang distandarkan pada gallic acid. Pengujian potensi antioksidan dilakukan dengan melihat kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH, anion superoksida dan hidroksil. Sedangkan pengujian potensi antidiabet dilakukan dengan melihat kemampuan ekstrak dalam menghambat kerja dari enzim α -amilase dan α -glukosidase. Ekstrak fenolik wuni yang paling berpotensi sebagai peredam radikal DPPH yaitu ekstrak metanol dengan persen penghambatannya sebesar $96,82 \pm 0,04$. Begitu juga potensi ekstrak metanol tertinggi dalam peredaman anion superoksida dan hidroksil dengan nilai persen penghambatannya berturut-turut yaitu $47,74 \pm 1,46$; $48,55 \pm 0,8$. Kemampuan penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat wuni dengan nilai persen penghambatannya sebesar $95,39 \pm 4,27$ dan $93,17 \pm 4,95$.

Kata Kunci : Ekstrak fenolik wuni, Antioksidan, Antidiabet

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit endokrin yang umum di seluruh dunia. Sekitar 173 juta orang di dunia menderita diabetes melitus. Menurut Funke dan Melzig (2006), jumlah penderita diabetes melitus akan dua kali lipat lebih banyak pada tahun 2030. Pada tahun 2000, Indonesia merupakan negara ke-empat terbesar di dunia yang masyarakatnya menderita penyakit diabetes melitus setelah India, China, dan USA (Wild *et al.*, 2004). Penyakit diabetes melitus berada pada peringkat ketiga sebagai penyakit yang menyebabkan kematian, setelah kanker dan kardiovaskular (Guo *et al.*, 2010). Penyakit kencing manis disebabkan oleh gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kandungan gula darah (*hiperglikemia*) dan sekresi glukosa dalam urin akibat kekurangan jumlah insulin, efek kerja atau keduanya (Rabbani *et al.*, 1999).

Berbagai komplikasi dapat diakibatkan oleh rendahnya kontrol diabetes. Komplikasi tersebut antara lain berupa penyakit vaskular sistemik (percepatan aterosklerosis), penyakit jantung, penyakit mikrovaskular pada mata, dan kerusakan ginjal (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Luasnya komplikasi pada diabetes tampaknya berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan. Fenomena ini dapat disebabkan oleh kemampuan hiperglikemia secara *in vivo* dalam modifikasi oksidatif berbagai substrat. Menurut (Droge, 2002), hiperglikemia juga terlibat dalam proses pembentukan

radikal bebas melalui autooksidasi glukosa dan glikasi enzimatis, serta aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif.

Pembentukan senyawa oksigen reaktif akibat hiperglikemia dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stress oksidatif (Nuttal, 1999). Kerusakan oksidatif tersebut dapat diatasi dengan pemberian antioksidan. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes melitus.

Hiperglikemia *postprandial* berperan penting dalam perkembangan DM tipe 2 dan komplikasi yang terjadi. Penderita DM tipe 2 ini harus menghadapi terapi sepanjang hidupnya untuk mengontrol hiperglikemia dan mencegah terjadinya komplikasi (Tahrani & Barret, 2010). Pengontrolan kadar glukosa *postprandial* merupakan strategi penting dalam pencegahan DM tipe 2, sehingga dapat dilakukan melalui pendekatan terapeutik dengan menunda absorpsi glukosa. Penundaan tersebut dilakukan dengan cara menghambat enzim-enzim yang terlibat dalam reaksi hidrolisis karbohidrat seperti α -amilase dan α -glukosidase menggunakan inhibitor-inhibitornya. Enzim α -amilase merupakan enzim yang menghidrolisis polisakarida

menjadi oligosakarida dan dekstrin yang dihidrolisis lebih lanjut oleh α -glukosidase di intestinal menjadi glukosa. Glukosa yang terbentuk akan diabsorb oleh epitelium intestinal dan masuk ke dalam sistem peredaran darah.

Tanaman merupakan sumber yang kaya akan inhibitor α -glukosidase dan antioksidan alami serta memiliki penghambatan aktivitas keduanya yang kuat, sehingga dapat digunakan untuk terapi hiperglikemia *postprandial* yang efektif (Nguyen et al., 2010). Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian untuk menemukan inhibitor α -glukosidase dan antioksidan alami yang berasal dari hasil ekstrak senyawa metabolit sekunder tanaman, yang nantinya digunakan sebagai alternatif obat antidiabetes. Tanaman yang berpotensi sebagai alternatif obat antidiabetes yaitu daun wuni (*Antidesma bunius*).

Wuni (*Antidesma bunius*) merupakan salah satu tanaman yang terdapat di Taman Nasional Merubetiri Jember. Pohon wuni tersebar di Asia Tenggara dan Australia, sedangkan di Jawa tumbuh liar di hutan. Kandungan dari tanaman ini tidak banyak diketahui. Berdasarkan penelitian Elya et al (2012), disebutkan bahwa ekstrak etanol 80% daun *Antidesma bunius* ini mengandung senyawa golongan glikosida, tannin, saponin, sterol-terpen, dan antarquinon. Sedangkan, ekstrak etanol 80% korteks buni mengandung alkaloid, tannin, saponin, dan sterol-terpen. Dari penelitian tersebut, wuni dianggap memiliki potensi menghambat kerja enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} 7,94 ppm.

Pada penelitian ini, ekstraksi metabolit sekunder dilakukan terhadap wuni (*Antidesma bunius*). Ekstrak yang diambil difokuskan pada ekstrak fenolik yang telah didapatkan dan diekstraksi bertingkat dengan pelarut yang meningkat kepolarannya (n-heksana, etil asetat, dan metanol). Hasil ketiga ekstrak tersebut yang diperoleh akan diuji aktivitas antioksidan dan antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah antara lain: Daun wuni (*Antidesma bunius*); daun garu (*Antidesma montanum*); n-heksana pa (Merck); etil asetat pa (Merck); metanol pa (Merck); aquades; reagen Folin-Ciocalteu (Merck); Na_2CO_3 (Merck); asam galat (Sigma-Aldrich); $NaNO_2$ (Merck); $AlCl_3$ (Merck); NaOH (Merck); *quercetin* (nacialai tasque); *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil* (DPPH) (nacialai tasque); etanol (Merck); vitamin C (nacialai tasque); *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (nacialai tasque); $FeCl_3$ (Merck); H_2O_2 (Sigma-Aldrich); deoksiribosa (Sigma-Aldrich); kalium dihidrogen fosfat (Merck); asam trikloroasetat (Merck); asam tiobarbiturat (Merck); *pyragallol* (Sigma-Aldrich); Trizma-base (nacialai tasque); HCL pa (Merck); sukrosa (Merck); DMSO (Merck); Na_2HPO_4 (nacialai tasque); *peroxidase* (Sigma-Aldrich); α -glukosidase (Sigma-

Aldrich); *glucose oxidase* (Sigma-Aldrich); 4-aminoaniphyrine (Sigma-Aldrich); fenol (Sigma-Aldrich); NaCl (Merck); Kalium natrium tartat (Merck); Soluble starch (Merck); 3,5-dinitrosalicylic acid (Merck); α -amylase (Sigma-Aldrich); kalium hydrogen fosfat (Merck); dan triton x-100 (Sigma-Aldrich).

Pembuatan Simplisia Daun Wuni

Daun wuni yang telah divalidasi oleh Lembaga Taman Nasional Merubetiri dikeringkan selama 10 hari. Daun yang telah kering dan terpilih dipotong kecil-kecil untuk diblender sehingga dihasilkan serbuk simplisia.

Ekstraksi Simplisia Daun Wuni

Ekstraksi simplisia dari daun wuni dilakukan dengan cara maeserasi. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Tahapan ekstraksi dimulai dari pelarut yang non polar, yaitu n-heksana. Masing-masing simplisia kering sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL untuk kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1;5. Selanjutnya dilakukan pengadukan (shaker) selama 3 hari pada suhu ruang. Setelah itu disaring dengan corong Buchner dan dilanjutkan dengan evaporasi dengan evaporator vakum pada suhu 40°C. ekstrak yang didapat disimpan dalam *refrigator* untuk keperluan selanjutnya. Residu yang dihasilkan kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dengan cara yang sama.

Analisis Total Fenolik Ekstrak Daun Wuni

Penentuan total fenolik pada ekstrak sampel menggunakan metode yang dikemukakan oleh Taga *et al.* (1984) dan dihitung menggunakan asam gallat sebagai standart. Sebanyak 100 μ L sampel ditambahkan kedalam 2 mL larutan Na_2CO_3 2%, (w/v) setelah 2 menit, ditambahkan 50% (v/v) reagen Folin-Ciocalteu. Hasil campuran divortex kemudian diinkubasi selama 30 menit. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 750 nm. Gallic acid digunakan sebagai standar. Satuan total fenol dalam mg *gallic acid equivalent* (GAE)/ gr sampel.

Analisis Total Flavonoid Ekstrak Daun Wuni

Penentuan kandungan total flavonoid didasarkan pada metode kolorimetri Al_2Cl_3 yang dikemukakan oleh Chang *et al.* (2002). Sebanyak 150 μ L sampel dilarutkan ke dalam 400 μ L aquadest. Kemudian dicampurkan dengan 30 μ L $NaNO_2$ 5% (w/v) setelah itu diinkubasikan selama 5 menit. Campuran tersebut kemudian ditambahkan 30 μ L $AlCl_3$ 10% lalu diinkubasikan selama 6 menit. Tambahkan 200 μ L 1 N NaOH dan 240 μ L aquadest ke dalam larutan tersebut. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 415 nm. *Quercetin* digunakan sebagai standar dengan satuan mg *quercetin equivalent* (QE)/gr sampel.

Analisis Peredaman Radikal DPPH Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Analisis peredaman radikal DPPH mengacu pada Soler-Rivas *et al.* (2000). Sebanyak 200 μL ekstrak dengan 5 konsentrasi yang berbeda dimasukkan ke dalam *microplate reader*. Setelah itu, ditambahkan 100 μL reagen DPPH 90 μM (dalam metanol) dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer Uv-Vis pada 515 nm setelah 30 menit. Dihitung persen peredaman radikal DPPH pada masing-masing konsentrasi fenolik dan nilai IC_{50} . Perhitungan persen peredaman menggunakan persamaan berikut :

$$\text{Persen Peredaman} = [(A_0 - A_1) / A_1] \times 100\% \text{ (persamaan 1)}$$

A_0 adalah absorbansi control dan A_1 adalah absorbansi ekstrak. Hasil perhitungan persen peredaman pada tiap-tiap konsentrasi digunakan untuk membuat kurva linear dengan mengplotkan persen peredaman dan log konsentrasinya. Persamaan linear yang dihasilkan adalah $y = mx + c$ dan persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} masing-masing dengan persamaan :

$$\text{IC}_{50} = 10^{(50-c)/m} \text{ (persamaan 2)}$$

Vitamin C digunakan sebagai standar positifnya.

Analisis Peredaman Radikal Anion Superoksida Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Aktivitas penangkapan radikal anion superoksida ditentukan berdasarkan autooksidasi *pyragallol* yang mengacu pada Tang *et al.* (2010). 100 μL larutan ekstrak dicampur dengan 1,8 mL buffer Tris-HCL 50 mM (pH 8,2). Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian ditambahkan 100 μL *pyragallol* 10 mM (dilarutkan di dalam 10 mM HCl). Setelah 4 menit absorbansi larutan ditentukan pada 320 nm. Dihitung persen peredaman radikan anion superoksida dengan persamaan berikut:

$$\text{Persen Peredaman} = [(S_0 - S_1) / S_1] \times 100\% \text{ (persamaan 3)}$$

S_0 adalah slope kontrol dan S_1 adalah slope ekstrak. Digunakan vitamin C sebagai standar positif.

Analisis Peredaman Radikal Hidroksil Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Aktivitas penangkapan radikal hidroksil ditentukan dengan mengacu pada metode Halliwell dan Gutteridge (1999). Reaksi dimulai dengan menambahkan campuran 50 μL *2-deoxy-2-ribose* 28 mM (dalam buffer fosfat 20 mM; pH 7,4), 150 μL ekstrak, 100 μL EDTA 1 mM; 100 μL FeCl_3 10 mM; 50 μL H_2O_2 1 mM; 50 μL asam askorbat dimasukkan dalam *ependorf* dan divortex. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Setelah 1 jam, ditambahkan 500 μL asam trikloroasetat

2,8% dan 500 μL asam tiobarbiturat 1%. Campuran divortex dan diinkubasi lagi untuk menghasilkan warna pink pada suhu 100 °C selama 20 menit. Campuran didinginkan dan ditentukan absorbansinya pada 532 nm. Dihitung persen peredaman radikal hidroksil. Digunakan vitamin C sebagai standar positif.

Analisis Penghambatan α -Amilase Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Analisis penghambatan α -Amilase dilakukan dengan mengacu pada (hashim *et al.*, 2013) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μL ekstrak dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang dilabeli S^+ dan S^- sebagai kontrol, 100 μL DMSO juga dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang dilabeli C^+ dan C^- . sampel yang berlabel positif ditambahkan dengan 150 μL α -amilase (0,1 u/mL, dalam buffer fosfat pH 6,9), sedangkan sampel yang berlabel negative ditambahkan dengan 150 μL buffer fsfat pH 6,9. Campuran dipreinkubasi selama 15 menit pada 37°C setelah divortex. Kemudian, ditambahkan 250 μL *soluble starch* 1% (w/v) ke dalam sebuah *ependorf*. Larutan diinkubasi selama 15 menit pada 37°C setelah divortex. Reaksi hidrolisis dihentikan dengan mendidihkan selama 1 menit. Setelah dingin, larutan *dicosmosil* dan diambil 160 μL dari masing-masing *ependorf* untuk dimasukkan ke *ependorf* lain dengan label yang sama. Sebanyak 80 μL reagen DNS ditambahkan ke dalam tiap-tiap *ependorf*. Campuran dididihkan selama 15 menit. Kemudian, ditambahkan 720 μL akuades setelah dingin dan divortex. Dipipet 200 μL ke dalam *microplate reader* dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm. Akar bosa digunakan sebagai standar positifnya. Persen penghambatan α -amilase dihitung melalui persamaan berikut :

$$\text{Persen inhibisi} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

C^+ = kontrol sampel dengan enzim, C^- = kontrol sampel tanpa enzim., Sedangkan S^+ = sampel dengan enzim , dan S^- = sampel tanpa enzim.

Analisis Penghambatan α -Glukosidase Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Analisis penghambatan α -glukosidase dilakukan dengan mengacu pada (Miyazawa *et al.*, 2005) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μL maltose 0.125 M dimasukkan ke dalam 4 *ependorf* yang berlabel C^+ , C^- , S^+ , S^- . sebanyak 100 μL ekstrak dimasukkan ke dalam *ependorf* S^+ , dan S^- , sedangkan C^+ , dan C^- ditambahkan dengan 100 μL DMSO. Setelah itu, 190 μL buffer fosfat pH 7 ditambahkan ke dalam setiap *ependorf*. Campuran divortex dan ditambahkan 10 μL α -glukosidase ke dalam *ependorf* C^+ dan S^+ , sedangkan C^- dan S^- ditambahkan akuabides. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam setelah divortex. Reaksi dihentikan dengan mendidihkannya selama 3 menit. Setelah dingin, *dicosmosil* dan hasilnya diambil 235 μL . Sebanyak 750 μL buffer fosfat pH 7

ditambahkan ke dalam setiap *eppendorf*. Dilanjutkan dengan penambahan 5 μL peroksidase (0,5 unit/ μL), 5 μL aminoantipirin (4 mg/mL), dan 5 μL glukosa oksidase (0,8 unit/ μL). Divortex dan dilanjutkan dengan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Hasil inkubasi dipipet 200 μL dan dimasukkan ke dalam *microplate reader* untuk diukur absorbansinya pada 500 nm. Persen penghambatan α -glukosidase dihitung dengan persamaan yang digunakan untuk menghitung persen penghambatan α -amilase. Akarbose digunakan sebagai standar positifnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Randemen Maserasi Simplisia Daun Wuni

Tabel 1. Randemen maserasi ekstrak daun wuni

Ekstrak	Randemen
EHW	2,4 %
EEAW	3,3 %
EMW	4,8 %
Total	10,5 %

Randemen maserasi ekstrak daun wuni dihitung berdasarkan perbandingan antara berat simplisia yang dimaserasi dan berat ekstrak yang diperoleh dalam bentuk nilai presentase. Hasil perhitungan persen randemen maserasi ekstrak ditunjukkan oleh table 1. Randemen hasil maserasi tertinggi yaitu ekstrak dengan pelarut metanol yang diikuti dengan etil asetat dan heksana. Metanol mampu melarutkan senyawa fenolik polar sampai non polar (Thompson, 1985). Senyawa senyawa nonpolar yang tertinggal selama maserasi akan larut dalam metanol. Oleh karena itu randemen maserasi dengan pelarut metanol memiliki randemen paling tinggi.

Total Fenolik Ekstrak Daun Wuni

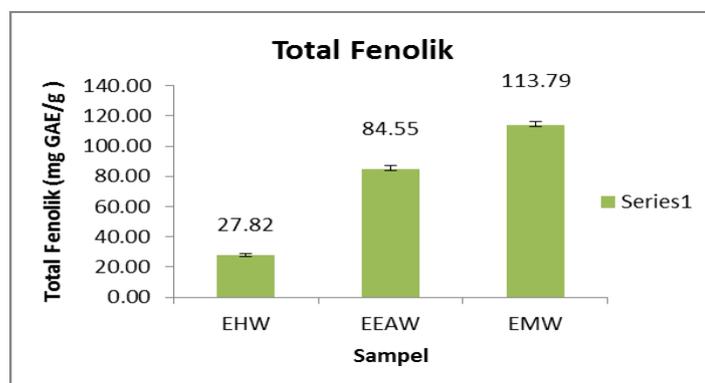
Kandungan total fenolik pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Mongkolsilp dkk, 2004). Total fenolik dalam ekstrak dinyatakan berdasarkan kemampuannya dalam mereduksi reagen Folin-Ciocalteu. Persamaan linear $y = 0.0595x - 0.0319$ dengan linearitas 0,97873 digunakan untuk menghitung total fenolik ekstrak. Hasil pengeplotan dan perhitungan total fenolik ekstrak ditampilkan pada Lampiran 4.

Satuan yang digunakan dalam pengukuran total fenolik yaitu milligram *gallic acid* per gram sampel (mg GAE/g). Berikut hasil perhitungan total fenolik ekstrak daun wuni.

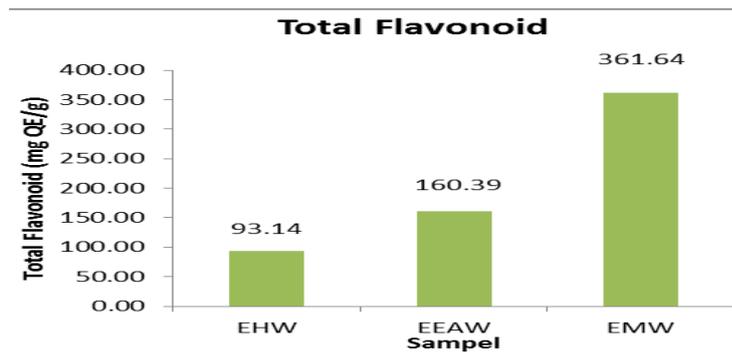
Total fenolik ekstrak meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Total fenolik fraksi metanol garu dan wuni tertinggi dibandingkan dengan fraksi yang lain. Hal ini disebabkan metanol dapat melarutkan senyawa fenolik paling banyak. Jumlah senyawa fenolik yang larut dalam fraksi EMW lebih banyak daripada EMG sehingga total fenoliknya juga lebih tinggi.

Total Flavonoid Ekstrak Daun Wuni

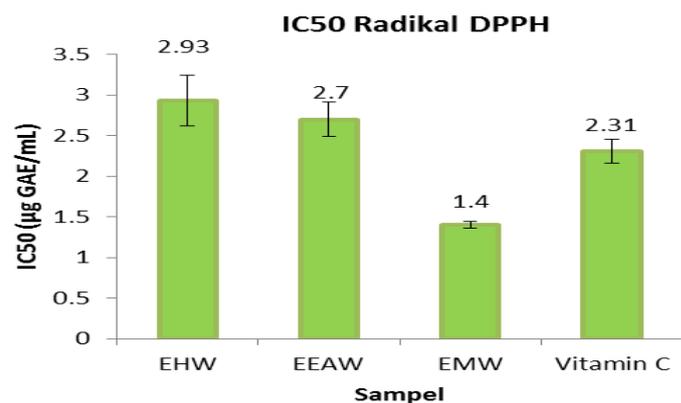
Flavonoid sebagai salah satu anggota dari senyawa fenolik memiliki kerangka dasar $C_6-C_3-C_6$ berupa dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan tiga karbon. Total flavonoid dianalisis berdasarkan kemampuan gugus *catechol* flavonoid mengkompleks dengan aluminium. Total flavonoid dalam ekstrak distandarkan pada *quercetin*. Persamaan linear $y = 0.0215x + 0.0348$ dengan linearitas 0.981 digunakan untuk menghitung total flavonoid ekstrak. Satuan yang digunakan dalam pengukuran total flavonoid yaitu milligram *quercetin* per gram sampel (mg QE/g). Hasil perhitungan total flavonoid ekstrak daun wuni ditampilkan oleh Gambar 2.



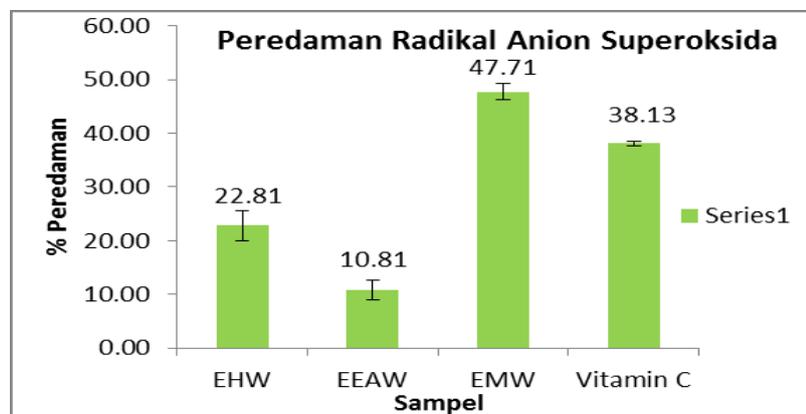
Gambar 1. Total fenolik ekstrak daun Wuni



Gambar 2. Total flavonoid ekstrak daun wuni



Gambar 3. Nilai IC₅₀ ekstrak fenolik daun Wuni



Gambar 4. Persen peredaman radikal anion superoksida

Seperti halnya total fenoliknya, total flavonoid ekstrak secara umum juga meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Total flavonoid tertinggi ditunjukkan oleh fraksi metanol.

Analisis Antioksidan

Analisis potensi antioksidan pada ekstrak fenolik wuni dan garu dilakukan secara kuantitatif. Analisis tersebut dilakukan dengan tiga metode, yaitu analisis peredaman radikal DPPH, peredaman radikal anion superoksida, dan peredaman radikal hidroksil.

Analisis Radikal DPPH

Analisis kuantitatif peredaman radikal DPPH didasarkan pada satuan IC₅₀. Berikut hasil peredaman radikal DPPH oleh keenam ekstrak fenolik yang ditampilkan oleh Gambar 3.

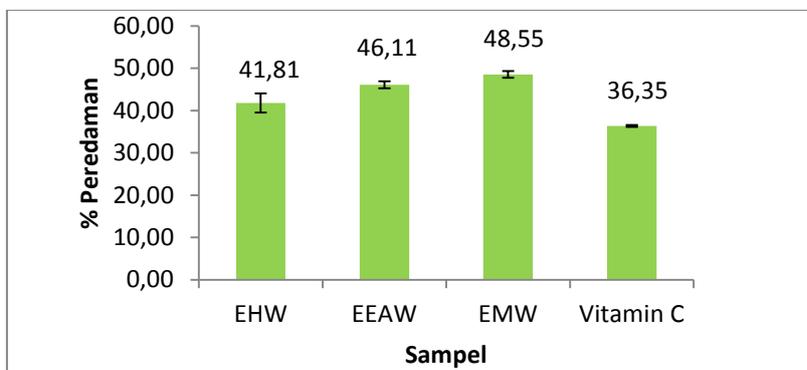
Potensi ekstrak fenolik sebagai peredam radikal DPPH meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Pengecualian terjadi pada ekstrak heksana. Ekstrak heksana memiliki persen penghambatan yang lebih besar daripada ekstrak etil asetatnya. Ekstrak metanol wuni (EMW) memiliki persen penghambatan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak yang lain. Selain itu EMW memiliki

nilai IC₅₀ terkecil. Hal ini sesuai dengan total fenolik dan flavonoidnya.

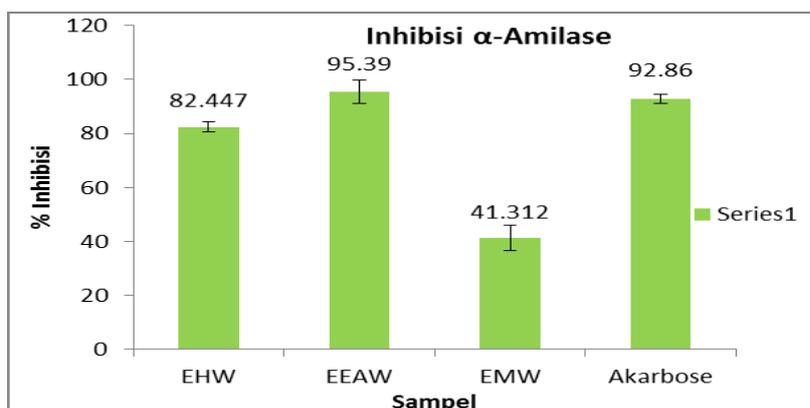
Analisis Radikal Anion Superoksida

Analisis antioksidan radikal anion superoksida didasarkan pada autooksidasi *pyrogallol* dalam kondisi basa. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam

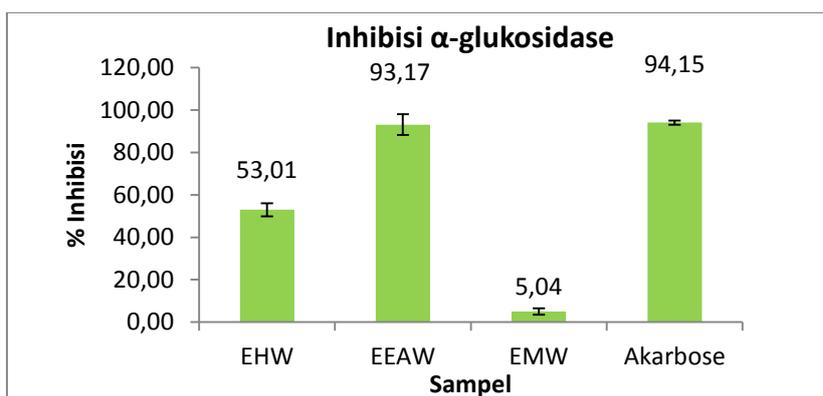
pengujian radikal superoksida ini yaitu 2 µg GAE/mL ekstrak. Persen peredaman radikal anion superoksida oleh ekstrak dibandingkan untuk menentukan ekstrak teraktifnya. Hasil perhitungan persen peredaman radikal anion superoksida oleh ekstrak daun wuni oleh Gambar 4.



Gambar 5. Persen peredaman radikal hidroksil



Gambar 6. Persen peredaman radikal hidroksil



Gambar 7. Persen Inhibisi α-glukosidase

Kemampuan peredaman radikal anion superoksida meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Pengecualian terjadi pada EHW yang memiliki nilai lebih besar dari EEAWnya. Kemampuan peredaman radikal anion superoksida secara umum didukung oleh total flavonoidnya.

Analisis Radikal Hidroksil

Radikal hidroksil dihasilkan dalam tubuh setelah terjadi reaksi antara hidrogen peroksida dengan radikal anion superoksida yang dikatalis logam transisi. Analisis antioksidan radikal hidroksil secara in-vitro didasarkan pada kompetisi antara senyawa fenolik dan 2-deoxy-D-ribose untuk bereaksi dengan radikal hidroksil.

Sebanyak 2 µg GAE/mL ekstrak digunakan untuk meredam radikal hidroksil. Persen peredaman radikal hidroksil dihitung pada Lampiran 9 dan hasilnya ditunjukkan oleh Gambar 5.

Ekstrak metanol wuni memiliki potensi sebagai peredam radikal tertinggi daripada ekstrak yang lain. Total flavonoid dalam ekstrak juga mendukung potensinya dalam meredam radikal hidroksil. Ekstrak yang memiliki total flavonoid lebih tinggi juga meredam aktivitas radikal hidroksil lebih kuat.

Analisis Antidiabet

Analisis potensi antidiabet pada ekstrak dilakukan dengan dua metode inhibisi, yaitu inhibisi enzim α -amilase dan inhibisi enzim α -glukosidase.

Analisis Inhibisi α -amilase

Potensi ekstrak wuni sebagai penghambat α -amilase dilihat dari persen penghambatannya pada konsentrasi fenolik yang sama. Ekstrak dengan konsentrasi 50 µg GAE/mL digunakan untuk menghambat α -amilase. Persen inhibisi masing-masing ekstrak ditampilkan pada gambar 6

Persen inhibisi α -amilase ekstrak tertinggi dimiliki oleh ekstrak etil asetat wuni dan bahkan lebih besar dari akarbose. Hal ini berarti senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat aktivitas α -amilase adalah senyawa semipolar.

Inhibisi α -Glukosidase

Potensi ekstrak wuni sebagai penghambat α -glukosidase dilihat dari persen penghambatannya pada konsentrasi fenolik yang sama. Ekstrak dengan konsentrasi 50 µg GAE/mL digunakan untuk menghambat α -glukosidase. Persen inhibisi masing-masing ekstrak ditampilkan pada gambar 7.

Persen inhibisi α -glukosidase ekstrak tertinggi dimiliki oleh ekstrak etil asetat wuni dan hampir mirip dengan akarbose. Sama halnya dengan inhibisi α -amilase, berarti senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat aktivitas α -glukosidase adalah senyawa semipolar.

KESIMPULAN

Ekstrak fenolik daun wuni berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan dengan vitamin C. Ekstrak metanol wuni (EMW) memiliki aktivitas peredam

radikal DPPH, anion superoksida dan radikal hidroksil dibandingkan dengan kedua ekstrak yang lain. Sedangkan ekstrak etil asetat wuni (EEAW) memiliki potensi antidiabet yang lebih daripada kedua ekstrak yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST) Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., & Kim, S. K. 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-guided Comparison. *Plant Sci.* 163: 1161-1168.
- Droge W. 2002. *Free radicals in the physiological control of cell function.* *Physiol Rev* 82:47-95.
- Elya, B., Basah, K., Mun'im, A., Yuliatuti, W., Bangun, A., & Septiana, E. K. 2012. Screening of α -Glucosidase Inhibitory Activity from Some Plants of Apocyanaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 3-4.
- Guo LP, Jiang TF, dan Wang YH. 2010. Screening α -glucosidase inhibitors from traditional Chinese drugs by capillary electrophoresis with electrophoretically mediated microanalysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53, 1250- 1253.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free radical in biology and medicine.* 3rd ed. New York: Oxford University Press. p.639-45.
- Hashim, A., Khan, M. S., Khan, M. S., Baig, M. H., & Ahmad, S. 2013. Antioxidant and Alpha Amylase Inhibitory Property of Phyllanthus Virgatus L: An In-Vitro and Molecular Interaction Study. *BioMed Research International*, 2013.
- Miyaza, M., yagi, N., & Taguchi, K. 2005. Inhibitory Compounds of α -Glucosidase Activity from *Arctium lappa* I. J. *Oleo Sci*, 54 (11): 589-594.

Sintesis Dan Karakterisasi Hidrogel Kitin Dari Limbah Udang Dengan Pencangkakan Monomer Asam Akrilat Dan Agen Pengikat Silang Metilen Bis-Akrilamida

Umi Fadilah*, Achmad Sjaifullah, dan Agung Budi Santoso

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

*Email: ufadilah75@yahoo.com

ABSTRAK

Kitin adalah biopolimer yang tersusun atas unit monomer N-asetil-D-glukosamin yang terhubung melalui ikatan β (1,4) glikosida. Pada penelitian ini, kitin yang telah diisolasi dari limbah udang secara enzimatik, digunakan untuk sintesis hidrogel. Kitin diisolasi secara enzimatik dengan penambahan HCl 1M dan pengkondisian pH 1-2 selama 10 hari. Isolasi secara kimia juga dilakukan sebagai pembandingan hasil isolasi enzimatik. Kitin yang diperoleh dianalisa kadar air, kadar abu, kadar N total, dan spektrogram IRnya. Kitin hasil isolasi enzimatik dan kimiawi secara berturut-turut memiliki kadar air (2,575% dan 1,466%); kadar abu (0,75% dan 1,14%); dan kadar N total (5,81% dan 5,69 %). Konsentrasi AA dan MBA divariasikan untuk menghasilkan hidrogel dengan karakter terbaik. Hidrogel yang terbentuk dianalisis spektra IR (ATR), daya serap air (*swelling*), dan penambahan monomernya (% *add-on*). Hidrogel dengan karakteristik terbaik, terbentuk pada komposisi kitin : AA (1:8) dan MBA 0,5%, dengan daya serap air 200,7g/g dan %*add-on* 1401,8%.

Kata Kunci : Kitin, Hidrogel, Karakterisasi

PENDAHULUAN

Kitin adalah senyawa yang bersifat *biodegradable* dan tidak beracun^[7]. Kitin dalam limbah udang masih terikat dengan mineral, protein, serta pigmen.

Teknik umum untuk memisahkan kitin dari campurannya adalah dengan deproteinasi menggunakan basa (NaOH), demineralisasi menggunakan asam (HCl) dan depigmentasi menggunakan NaOCl. Penggunaan pelarut kimia yang banyak akan menghasilkan limbah buangan yang bisa mencemari lingkungan. Untuk meminimalisir pencemaran akibat isolasi secara kimia, maka dilakukan isolasi secara enzimatik. Proses deproteinasi secara enzimatik pernah dilakukan oleh Juniarso (2008) menggunakan enzim protease dari luar (isi perut ikan lemuru).

Pada penelitian ini, enzim protease yang digunakan berasal dari limbah udang itu sendiri. Selanjutnya, kitin hasil isolasi dimodifikasi menjadi hidrogel. Kitin dapat larut secara maksimal dalam campuran NaOH/Urea (8wt%/4wt%)^[3]. Dengan demikian, kitin yang telah larut dapat dimodifikasi menjadi hidrogel.

Monomer yang umum digunakan dalam sintesis hidrogel yaitu akrilamida dan asam akrilat (AA). Agen pengikat silang yang digunakan adalah Metilen bis-akrilamida (MBA).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini akan mengkaji tentang sintesis dan karakterisasi hidrogel kitin hasil isolasi enzimatik dari limbah udang yang dimodifikasi dengan teknik polimerisasi cangkok asam akrilat (AA) dan ikat silang metilen-bis-akrilamida (MBA). Analisis kadar air, kadar abu, %N total, dan spektra IR kitin dilakukan untuk mengetahui

perbandingan hasil isolasi enzimatik maupun kimia. Karakterisasi hidrogel menggunakan daya serap (*swelling*), berat total monomer yang terikat (% *add on*) dan spektra IR hidrogel kitin.

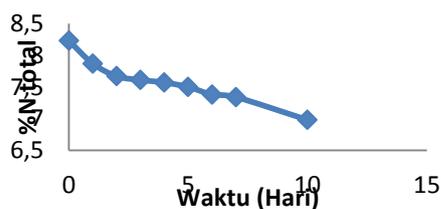
METODE PENELITIAN

Isolasi kitin dilakukan secara enzimatik dan kimiawi. Isolasi secara enzimatik dilakukan dengan merendam limbah cangkang udang dalam larutan HCl 1 M selama 10 hari dan pengontrolan pH 1-2. Isolasi kitin secara kimiawi dilakukan berdasarkan metode Tolaimatea, *et al* (2003) dengan tahapan deproteinasi, demineralisasi, dan depigmentasi. Karakterisasi kitin meliputi kadar nitrogen, kadar air, kadar abu, dan analisis spektra IR. Kitin hasil isolasi secara enzimatik digunakan untuk sintesis hidrogel melalui teknik polimerisasi radikal bebas. Kitin dilarutkan dalam NaOH 8%/urea 4%. Larutan kitin ditambahkan inisiator kalium persulfat (1% dari total monomer, asam akrilat dengan variasi konsentrasi kitin : AA (1:2, 1:4, 1:6, dan 1:8 b/b) dan variasi MBA 0,5%; 1%; 1,5% dari berat total monomer. Karakterisasi Hidrogel Kitin meliputi %*add-on*, *Swelling*, dan spektra IR.

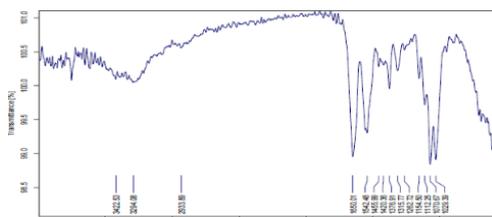
HASIL DAN PEMBAHASAN

Deproteinasi secara Enzimatik dan Kimiawi

Pengukuran kadar N total dilakukan dengan metode Kjeldahl. Pada isolasi enzimatik, pepsin akan menghidrolisis protein yang terikat pada kitin sehingga terlepas dan menjadi protein terlarut. Dapat dilihat pada grafik, bahwa pada hari ke 0, % N limbah sebesar 8,23% dan menurun hingga 6,98% pada hari ke 10.



Gambar 1. Grafik Penurunan Kadar Nitrogen Total Limbah Udang 10 Hari Perendaman pada kondisi pH 1-2



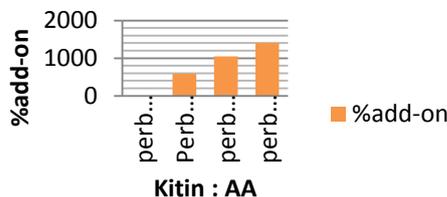
Gambar 2. Spektra Kitin Hasil Isolasi Secara Enzimatis dan Kimiawi

Penurunan % N total hari pertama ke hari kedua terlihat lebih tajam dibanding hari ketiga dan seterusnya. Hal ini dikarenakan pada hari ketiga dan selanjutnya, terjadi denaturasi enzim karena peningkatan pH dalam rendaman akibat pelepasan mineral dan protein dari kitin.

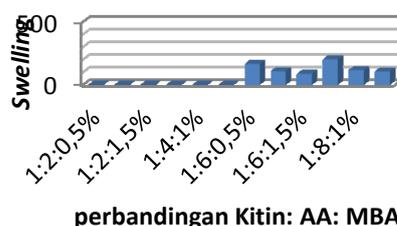
Hasil isolasi secara kimiawi juga menunjukkan adanya pengurangan N total pada kitin karena terjadi hidrolisis protein oleh larutan NaOH 3,5%. Rendemen hasil deproteinasi sebesar 43,2%. Protein yang hilang sebesar 56,7%. Berdasarkan pengukuran Kjeldahl, protein yang hilang sebesar 15,9%. Nilai ini diperoleh dari selisih kadar N total kitin hari ke 0 dengan N total kitin setelah depigmentasi, dikalikan dengan faktor konversi protein sebesar 6,25. Protein yang hilang pada proses deproteinasi jauh lebih besar dibanding dengan pengukuran Kjeldahl. Hal ini disebabkan karena pencucian berulang kali pada penetralan sampel setelah deproteinasi sehingga peluang terbuangnya zat lain selain protein relatif besar.

Demineralisasi dilakukan untuk menghilangkan mineral yang terikat pada kitin. Mineral utama yang terdapat dalam limbah udang adalah CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Reaksi yang terjadi antara CaCO_3 dengan HCl akan membentuk CaCl_2 (aq) dan CO_2 . $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ akan membentuk $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ yang larut. Keberhasilan

demineralisasi secara enzimatik maupun kimiawi dapat dibandingkan dari nilai kadar abu kitin. Sedangkan mineral yang hilang dari proses demineralisasi secara kimia dapat diketahui rendemennya yakni 26,20%.



Gambar 3. %add-on Hidrogel



Gambar 4. Daya serap air

Depigmentasi bertujuan untuk menghilangkan zat warna pada kitin yang merupakan suatu karotenoid yang memberi warna pink atau merah pada hewan laut. Kitin rata-rata yang diperoleh setelah depigmentasi secara kimia sebesar 15,34%. Kitin yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan literatur yang ada yaitu sebesar 15-20%^[6].

Karakterisasi Kitin

Kadar abu kitin hasil isolasi enzimatik sebesar 0,75% lebih kecil dibandingkan dengan kadar abu kitin hasil isolasi kimiawi sebesar 1,14%. Hal ini disebabkan karena lamanya waktu interaksi antara HCl dan sampel yang digunakan. Meskipun kitin dari kedua metode memiliki nilai kadar abu yang berbeda, tapi kitin yang diperoleh masih sesuai dengan literatur yang ada. Menurut Liu, *et al* (2012), kitin komersial memiliki kadar abu 1,6%. Kadar nitrogen total kitin dari kedua metode masih berada dalam kisaran literatur yaitu berkisar antara 5-8%^[1].

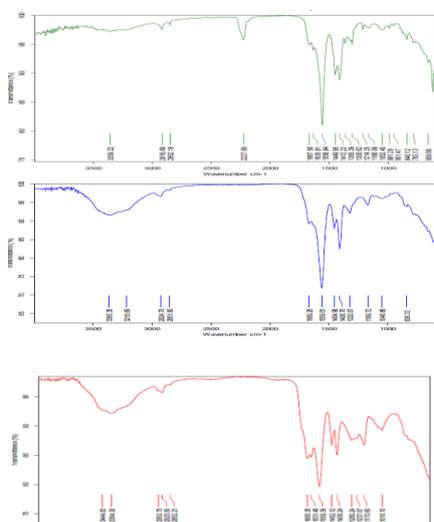
Tabel 1. pita serapan spektra IR kitin

Serapan Acuan (cm ⁻¹)	Serapan kitin kimiawi (cm ⁻¹)	Serapan kitin Enzimatis (cm ⁻¹)	Jenis Vibrasi
3448,5	3444,2	3422,5	Stretching-OH
3271	3265,5	3294	Stretching N-H
1658,7	1652,1	1650	C=O, amida

1558.4	1556.7	1542,4	N-H
1311.5	1315	1315,7	C-N
1157,2 ; 1072,3	1154,7; 1072,6	1154,5; 1070,6	C-O

Tabel 2. pita serapan spektra IR hidrogel

Kitin Acuan	Hidrogel 1:4:0,5% (cm ⁻¹)	Hidrogel 1:6:0,5% (cm ⁻¹)	Hidrogel 1:8:0,5% (cm ⁻¹)	Jenis Vibrasi
3448,5	3359,2	3365,3	3364,3	Streching-OH
2885.3	2852,1	2851,8	2852,2	Streching C-H
1658.7	1667,5	1669,2	1665,3	C=O
1558.4	1558,9	1559,6	1559,3	N-H
1311.5	1305,6	1320,0	1280,2	C-N
1157,2; 1026	1166,0; 1052,4	1169,7; 1048,8	1170,6; 1016,1	C-O



Gambar 5. Spektra Hidrogel Kitin-PAA -MBA 1:4, 1:6, 1:8.

Spektra IR kitin secara enzimatik dan kimiawi dibandingkan dengan literturnya. Kitin hasil isolasi enzimatik maupun kimiawi memiliki serapan pada bilangan gelombang yang mirip dan masih menunjukkan puncak khas dari polimer kitin yang sesuai dengan literatur. Hal ini menunjukkan bahwa isolasi kitin secara enzimatik dengan menggunakan enzim dari limbah udang itu sendiri dapat digunakan sebagai alternatif isolasi kitin dari limbah udang.

Sintesis Hidrogel

Penambahan monomer (% add-on)

%add-on yang diperoleh dalam pembuatan hidrogel dapat dilihat pada Gambar 3. Variasi berat kitin :AA (1:8) memiliki %add-on yang paling besar yaitu 1401. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa %add-on meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah monomer^[10].

Swelling

Hasil uji daya serap hidrogel terhadap air, dapat dilihat pada Gambar 4. Daya serap air paling tinggi dimiliki

oleh hidrogel yang berasal dari variasi perbandingan Kitin : asam akrilat terbesar (1:8) dan MBA 0,5%. Peningkatan swelling dikaitkan dengan adanya gugus yang lebih hidrofilik (-COOH) dari asam akrilat yang tercampok pada kitin. Hal ini sesuai dengan literatur yaitu penyerapan air paling tinggi terjadi pada hidrogel dengan asam akrilat paling tinggi dan MBA yang paling kecil. Kemampuan polimer untuk mengembang (*swelling*) turun apabila rantai sambung-silangnya meningkat^[11]

Spektra IR Hidrogel

Spektra IR hidrogel Kitin: AA 1:4, 1:6, dan 1:8 secara berturut-turut menunjukkan adanya serapan baru pada bilangan gelombang di sekitar 1665 cm⁻¹. Berikut merupakan Spektra IR hidrogel kitin dengan variasi berat monomer AA dengan MBA 0,5%. Serapan dari OH asam yang melebar dapat diamati di daerah 2300-3700 cm⁻¹. Serapan ini terlihat jelas pada hidrogel kitin-PAA-MBA 1:8:0,5%. Hidrogel dengan perbandingan berat kitin:AA (1:8) memiliki puncak serapan yang lebih tajam dibandingkan dengan gambar 1:4 dan 1:6. Data spektra IR hidrogel di atas dapat dilihat pada Tabel 2.

KESIMPULAN

Kitin hasil isolasi enzimatik dan kimiawi memiliki kadar air (2,575% dan 1,466%); kadar abu (0,75% dan 1,14%); dan kadar N total (5,81% dan 5,69 %). Kadar air, kadar abu, dan kadar N total pada kitin dari kedua metode pada penelitian ini masih sesuai dengan literatur yang ada. Sehingga, isolasi kitin secara enzimatik dengan enzim dari limbah udang itu sendiri dapat digunakan sebagai metode alternatif dalam isolasi kitin. Hidrogel yang disintesis dari kitin hasil isolasi enzimatik memiliki karakteristik terbaik pada komposisi kitin : asam akrilat (AA) (1:8) dan metilen bis-akrilamida (MBA) 0,5% dengan daya serap air sebesar 200,7g/g dan %add-on 1401,8%.

DAFTAR PUSTAKA

- Dutta, P.K. Dutta, J. And Tripathi, V.S., 2004. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, **63**: 20-31.
- Dwiasi, D.W. & Kurniasih .M., 2007. Preparasi dan karakterisasi kitin dari kulit udang putih (*Lithopenaeus vannamei*). *Molekul*, **2** (2): 79-87.
- Hu, Xianwen, D, Yumin, Tang, Y., Wang, Q., Feng, T., Yang, J., and Kennedy, J. F. 2007. Solubility and Property of Chitin in NaOH/urea Aqueous Solution. *Carbohydrate Polymers*. **70**: 451-458.
- Juniarso, E.T. 2008. Skripsi: "Pemanfaatan ekstrak kasar protease dari isi perut ikan lemuru (*Sardinella* sp.) untuk deproteinasi limbah udang secara enzimatis dalam proses produksi kitosan". Jember: Universitas Jember.
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C., and Yang, Q. 2012. Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. *Molecules*, **17**: 4604-461.
- Marganof, 2003. Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (timbal, kadmium dan tembaga) di Perairan. [Serial Online]. [<https://www.scribd.com/doc/45073572/marganof>]. *Jurnal Program Pasca Sarjana (S3)*, **12**(2):172 - 184.
- Pillai, C.K.S., Paul, W., dan Sharma, C.P. 2009. Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility and Fiber Formation. *Progress in Polymer Science*, **34**: 641-678.
- Sorour, M., El-Sayed, M., El Moonem, N.A., Talaat, H.A., Shalaan, H., and El Marsafy, S. 2013. Characterization of hydrogel synthesized from natural polysaccharides blend grafted acrylamide using microwave (MW) and ultraviolet (UV) techniques. *Starc*, **65**: 172-178.
- Tanodekaew, Prasitsilp, Swasdison, Thavornyutkarn, Pothsree, and Pateepasen. 2003. Preparation of acrylic grafted chitin for wound dressing application. *J. Biomaterials*, (25) : 1453-1460.
- Tolaimate, A. Desbieres, J. Rhazi, M. And Alagui, A. 2003. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Journal of Polymer*, **44**: 7939-7952.
- Zhang, Y. 2009. Thesis: "Preparation of Copolymer of Acrylic Acid and Acrylamide for Copper (II) Capture from Aqueous Solutions", Canada: University of Waterloo, Ontario.

Deteksi Kandungan Xilan Dari Ampas Kedelai Dan Reaktivitas-Nya Terhadap *Endo-β-1,4-Xilanase*

Wardatul B., A. A. I. Ratnadewi*, Agung Budi S., Wuryanti H., dan Ika Oktavianawati

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

*Email : dewi_pjw2003yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi xilan dari ampas kedelai dan untuk mengetahui xilan yang dihasilkan dapat digunakan sebagai substrat untuk enzim endo-β-1,4-xilanase. Dalam penelitian ini, ada dua metode yang digunakan untuk mengekstraksi xilan. Metode pertama, ampas kedelai yang digunakan dipretreatment dengan penghilangan lipid dan pengurangan protein (deproteinasi) terlebih dahulu. Selanjutnya, ampas kedelai ditreatment dengan menggunakan NaOH 4, 8, dan 12% pada suhu kamar selama 24 jam. Xilan yang dihasilkan sebesar 0,4; 2,1; dan 6,7%. Metode kedua, ampas kedelai ditreatment dengan menggunakan NaOH 4, 8, dan 12% pada suhu kamar selama 24 jam dihasilkan xilan sebesar 2,8; 3,0; dan 11,8%. Fraksi xilan yang dihasilkan dari kedua metode dihidrolisis dengan menggunakan enzim endo-β-1,4-xilanase. Hasil hidrolisis diuji dengan metode DNS, total gula reduksi yang dihasilkan sebesar 0,140 mg/mL (metode pertama) dan 0,118 mg/mL (metode kedua). Berdasarkan hasil penelitian ini, ampas kedelai bisa digunakan sebagai sumber xilan dan xilan yang diisolasi dapat digunakan sebagai substrat untuk enzim endo-β-1,4-xilanase.

Kata Kunci : ampas kedelai, ekstraksi, xilan, xilanase

PENDAHULUAN

Ampas kedelai adalah produk samping yang dihasilkan dari proses pengolahan tahu dan susu kedelai. Sebagian besar ampas kedelai hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau dibuang dan dibakar, padahal ampas kedelai masih mengandung nutrisi yang baik dan masih berguna. Menurut Mateos *et al.*, (2010), dalam 100 g ampas kedelai kering terdapat sekitar 33,4 g protein, 8,5 g lemak, 54,3 g serat, 3,9 g karbohidrat, dan 3,7 g abu.

Ampas kedelai juga mengandung beberapa polisakarida seperti galaktan, arabinan, arabinogalaktan, xilolakturonan, xiloglukan, xilan dan selulosa (Li Bo *et al.*, 2012). Hemiselulosa yang terkandung pada ampas kedelai sebesar 10% (Matsuo, 2004). Xilan adalah hemiselulosa yang merupakan polimer dari pentosa (xilosa) dengan ikatan β-1,4 yang jumlah monomernya berkisar antara 150-200 unit (Sunna dan Antranikian, 1997; Richana *et al.*, 2007). Rantai utama xilan terdiri atas kerangka yang mengandung unit-unit ikatan glikosida β-1,4-D-xilopiranosida (Richana *et al.*, 2002). Xilan merupakan substrat dari enzim endo-β-1,4-xilanase (Collins *et al.*, 2005).

Xilanase merupakan kelompok enzim yang mampu menghidrolisis xilan dan xilo-oligosakarida. Xilanase umumnya merupakan protein kecil yang memiliki berat molekul 15.000-30.000 Dalton dan aktif pada suhu 55° C dengan pH 9 (Yang *et al.*, 1988). Berdasarkan substrat yang dihidrolisis, xilanase dapat diklasifikasikan menjadi β-xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase. Endoxilanase adalah enzim yang memiliki kemampuan memutus ikatan glikosida dengan posisi β→1,4 pada rantai utama xilan untuk menghasilkan xilooligosakarida (Richana *et al.*, 2002).

Ekstraksi xilan pada limbah pertanian telah dilakukan oleh Richana *et al.* (2007) dengan memodifikasi metode dari Yoshida *et al.* (1994). Richana berhasil mengekstraksi xilan dari limbah tongkol jagung. Xilan yang dihasilkan, diuji menggunakan kromatografi cairan kinerja tinggi dengan hasil xilan tertinggi sebesar 12,95%. Ekstraksi xilan dari limbah tongkol jagung juga telah dilakukan oleh Anggraeni (2003) dengan menggunakan metode ekstraksi netralisasi dan asidifikasi. Berdasarkan uji kualitatif dengan menggunakan ZnCl₂ dan I₂, diketahui bahwa xilan hasil metode asidifikasi memiliki kemurnian lebih tinggi dibanding xilan metode netralisasi. Hal ini dapat dilihat dari kuatnya warna biru yang terbentuk pada reaksi warna. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi xilan dari ampas kedelai dan untuk mengetahui reaktivitasnya terhadap enzim endo-β-1,4-xilanase.

METODE PENELITIAN

Bahan

Ampas kedelai, xilosa (Japan), etanol (E-Merck), NaOH (E-Merck), HCl (E-Merck), Na₂HPO₄ (E-Merck), asam sitrat (E-Merck), KNaTartrat (E-Merck), asam 3,5-dinitrosalisilat (E-Merck), fenol (E-Merck), Na₂SO₃ (E-Merck), n-heksan (E-Merck).

Metode

Ekstraksi Lipid pada Ampas Kedelai

Sebanyak 5 gram sampel ditempatkan ke dalam labu alas bulat dan dimasukkan 25 mL n-heksana kedalam labu alas bulat. Sampel direfluks pada suhu 60 °C selama 2 jam dan diaduk. Setelah 2 jam, campuran sampel didekantasi dan sampel dikeringkan sampai

berat sampel konstan. Sedangkan campuran minyak dan pelarut dievaporasi pada suhu 40 °C sampai berat konstan. Persentase lipid dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Ekstraksi Xilan} = \frac{\text{berat kering xilan yang diekstraksi (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Wa : Berat sampel awal
Wb : Berat Sampel Akhir
(Ozioko, 2012).

Penghilangan Protein (Deproteinasi) pada Ampas Kedelai

Sampel (yang telah dipisahkan minyaknya) sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam beaker gelas 100 mL dan dicampur dengan NaOH 1 M dengan perbandingan 1:10 (sampel:pelarut). Campuran sampel dipanaskan pada suhu 70 °C selama 2 jam dan dilakukan pengadukan terus-menerus. Kemudian disaring untuk memisahkan antara residu dengan filtrat. Selanjutnya, residu dicuci dengan akuades hingga pH netral (Naznin, 2005).

Ekstraksi Xilan pada Ampas Kedelai

Sebanyak 10 gram sampel dimasukkan ke dalam beaker gelas 250 mL dan dicampur dengan NaOH 4; 8; dan 12% dengan perbandingan 1:10 (sampel:pelarut) selama 24 jam pada suhu kamar. Selanjutnya, campuran sampel *dibuchner* untuk memisahkan residu dan filtrat. Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dinetralkan pH-nya dengan menggunakan HCl 6 M. Larutan (dengan pH netral) disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dan endapan dipisahkan dari supernatannya. Kemudian supernatan ditambahkan etanol 95 % dengan perbandingan 1:3 (supernatan:etanol). Campuran sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 65 °C sampai berat konstan.

Persentase xilan bisa dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Ekstraksi Xilan} = x \times 100$$

Keterangan:

W_{EX} : Berat sampel awal
W_S : Berat Sampel Akhir
(Samanta *et al.*, 2013).

Penentuan Total Gula Pereduksi (Uji DNS)

Substrat sebanyak 0,1 gram dilarutkan ke dalam 10 mL buffer fosfat sitrat pH 5. Larutan substrat 1% (b/v) diambil sebanyak 125 µl dan dimasukkan ke dalam *eppendorf*. Selanjutnya, ke dalam *eppendorf* dimasukkan enzim endo-β-1,4-xilanase sebanyak 125 µl. Campuran enzim dan substrat diinkubasi selama 16 jam pada suhu 40 °C. Selanjutnya campuran enzim dan substrat ditambahkan larutan DNS sebanyak 750 µl, campuran dipanaskan pada suhu 100 °C dalam *water bath* selama 15 menit dan didinginkan dalam es selama 20 menit. Warna yang timbul dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Absorbansi yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva standar xilosa untuk mengetahui total gula reduksinya (Miller, 1959; Ratnadewi *et al.*, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Lemak pada Ampas Kedelai

Lemak yang terdapat didalam ampas kedelai diekstraksi dengan menggunakan pelarut n-heksan. Lemak yang berhasil diekstraksi sebesar 11%, mendekati hasil penelitian yang dilaporkan oleh Rashad *et al.* (2011) sebesar 12%. Lemak bisa diekstraksi menggunakan pelarut non polar seperti n-heksan, hal ini dikarenakan lemak merupakan senyawa non polar yang hanya bisa larut dalam pelarut non polar.

Tabel 1. Penentuan Persentase Lipid yang Diekstrak

Penentuan	Hasil (g)
Berat sampel awal	5
Berat sampel akhir	4,40
Persentase lipid yang diekstrak	11%

Tabel 2. Persentase Hasil Ekstraksi Xilan

%NaOH	% Xilan yang Diekstrak	
	Metode Pertama	Metode Kedua
4	0,4	2,8
8	2,1	3,0
12	6,7	11,8

Tabel 3. Total Gula Pereduksi

Total gula pereduksi (metode pertama)	0,140 mg/mL
Total gula pereduksi (metode kedua)	0,118 mg/mL

Penghilangan Protein (Deproteinasi) pada Ampas Kedelai

Ampas kedelai yang telah diekstraksi lemaknya, dideproteinasi menggunakan NaOH 1M dengan perbandingan 1:10 (w/v). Proses deproteinasi menyebabkan protein yang terkandung didalam ampas kedelai akan terekstrak menjadi Na-proteinat, residu yang diperoleh dicuci dengan akuades sampai pH netral. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan NaOH yang masih tersisa dalam residu.

Ekstraksi Xilan pada Ampas Kedelai

Ekstraksi xilan pada ampas kedelai dilakukan dengan merendam xilan dengan pelarut NaOH selama 24 jam. Larutan alkali seperti NaOH lebih sering digunakan untuk mengekstraksi xilan karena kemampuannya untuk memisahkan hemiselulosa melalui hidrolisis ikatan ester dengan mengembungkan (*swelling*) selulosa dan menurunkan struktur kristalin dari selulosa. Ion hidroksil dari larutan NaOH menyebabkan pembengkakan (*swelling*) pada selulosa, menghidrolisis ikatan ester, dan memutus ikatan hidrogen antara selulosa dan hemiselulosa yang mengarah pada ekstraksi xilan pada ampas kedelai (Samanta *et al.*, 2013).

Ada dua metode yang digunakan untuk mengekstraksi xilan pada ampas kedelai. Pada metode pertama dilakukan pretreatment penghilangan lemak dan protein yang terkandung dalam ampas kedelai. Selanjutnya, Ampas kedelai direndam dengan pelarut NaOH dengan variasi konsentrasi 4, 8, dan 12% menghasilkan persen ekstraksi sebesar 0,4; 2,1; dan 6,7%. Sedangkan pada metode kedua, ampas kedelai direndam dengan pelarut NaOH dengan konsentrasi yang sama pada metode pertama. Persen ekstraksi xilan yang dihasilkan sebesar 2,8; 3,0; dan 11,8%. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Samanta *et al.* (2013), dimana semakin besar konsentrasi NaOH yang digunakan maka persen ekstraksi xilan yang diperoleh juga semakin besar. Persen ekstraksi xilan yang diperoleh pada metode kedua lebih besar daripada pada metode pertama. Hal ini disebabkan karena protein yang terkandung dalam ampas kedelai juga terekstrak saat proses ekstraksi xilan berlangsung sehingga menyebabkan persen ekstraksi xilan mengalami kenaikan dibandingkan pada metode pertama.

Penentuan Total Gula Pereduksi (Uji DNS)

Xilan yang berhasil diekstrak kemudian dihidrolisis dengan enzim endo- β -1,4-xilanase dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu 40 °C dan pH 5. Gula pereduksi yang dihasilkan diukur menggunakan metode DNS. Gula reduksi merupakan senyawaan gula yang

memiliki gugus aldehid. Total gula pereduksi yang diukur sebesar 0,140 mg/mL (metode pertama) dan 0,118 (metode kedua).

KESIMPULAN

Xilan yang diekstraksi pada ampas kedelai dengan variasi konsentrasi NaOH 4, 8, dan 12% sebesar 0,4; 2,1; 6,7% (metode pertama) dan 2,8; 3,0; 11,8% (metode kedua). Xilan yang diekstraksi pada metode pertama dan kedua bisa digunakan sebagai substrat dari enzim endo- β -1,4-xilanase. Hal ini ditunjukkan dengan dihasilkannya gula pereduksi sebesar 0,140 mg/mL (metode pertama) dan 0,118 (metode kedua) setelah dihidrolisis dengan enzim endo- β -1,4-xilanase selama 16 jam pada suhu 40 °C dan pH 5.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, F. 2003. "Kajian Ekstraksi dan Hidrolisis Xilan dari Tongkol Jagung (*Zea mays L.*)". Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Collins, T., Gerday, C., & Feller, G. 2005. Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanase. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 29(1): 3-23.
- Li, B., Lu, F., Nan, H., & Liu, Y. 2012a. Isolations and Structural Characterisation of Okara Polysaccharides. *Molecules*, 17: 753-761.
- Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suarez, M. J. 2010. Isolation and Characterisation of Cell Wall Polysaccharides from Legume by-Products: Okara (Soy milk Residue), Pea Pod, and Broad Bean Pod. *Food Chemistry* 122: 339-345.
- Matsuo, M. 2004. Saccharification of Okara Fiber by Plant Dietary Fiber Hydrolases. *Journal Nutrien Science Vitaminol*, 50: 291-294.
- Miller, G.R. 1959. Use of Dinitrosalicylic Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Journal of Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- Naznin, R. 2005. Extraction of Chitin and Chitosan from Shrimp (*Metapenaeus monoceros*) Shell by Chemical Method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(7): 1051-1054.
- Ozioko, F. U. 2012. Extraction and Characterization of Soybean Oil Based Bio-Lubricant. *AU J.T.*, 15(4): 260-264.
- Rashad, M. M., Mahmoud, A. E., Abdou, H. M., & Nooman, M. U. 2011. Improvement of Nutritional Quality and Antioxidant Activities of Yeast Fermented Soybean Curd Residue. *African Journal of Biotechnology*, 10(28): 5504-5513.

- Ratnadewi, A. A. I., Handayani, W., & Puspaningsih, N. N. T. 2007. Produksi dan Karakterisasi, Enzim β -Endoxilanase dari Bakteri Sistem Intestinal Rayap. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(2): 110-117.
- Richana, N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*, 5(1): 29-36.
- Richana, N., Irawadi, T. T., Nur, M. A., Sailah, I., Syamsu, K., & Arkenan, Y. 2007. Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung. *Jurnal Pascapanen*, 4(1): 38-43.
- Samanta, A. K., Jayanta N., Kolte A. K., Senani, S., Sridhar, M., Mishra, S., Prasad, C. S., & Suresh K. P. 2013. Application of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) Stalks as Raw Material for Xylooligosaccharides Production. *Applied Biochemical Biotechnology*, 169: 2392-2404.
- Sunna, A dan G. Antranikian. 1997. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 17(1): 39-67.
- Yang, R. C., McKenzi, C. R., Bilous, D., Seligy, V. I., & Narang, S. S. 1988. *Applied Enviromental Microbiology*, 54: 1023-1029.
- Yoshida, S., Satoh, T., Shimokawa, S., Oku, T., Ito, T., & Kusakabe, I. 1994. Substrate Specificity of *Strepyomyces* β -Xylanase toward Glucoxytan. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 58(6): 1041-1044.

Sintesis Dan Karakterisasi Senyawa Azo Dari p-Aminofenol Dengan Sulfanilamida

Yuliana, I Nyoman Adi Winata, Ika Oktavianawati*

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

E-mail: bag_cha@yahoo.com

ABSTRAK

Sintesis banyak dikembangkan sebagai jalur penemuan senyawa baru atau duplikasi senyawa tertentu yang mahal dan sulit didapat. Sintesis senyawa azo dikembangkan karena aplikasi yang luas yaitu sebagai pewarna, indikator, dan zat antibakteri. Penelitian ini mempelajari teknik sintesis senyawa azo dari p-aminofenol dengan sulfanilamida melalui reaksi diazotisasi dan kopling azo. Hasil sintesis berupa serbuk kuning dan orange dengan rendemen 30,2% dan 41,3 % pada waktu kopling optimum 60 menit. Penentuan titik leleh menunjukkan azo kuning dan azo orange masing – masing 112°C dan 156°C. Produk sintesis dikarakterisasi dengan spektroskopi UV-Vis dan IR. Scanning λ_{max} azo kuning yaitu 260 nm dan 206 nm, sedangkan azo orange pada 264 nm. Analisis IR menunjukkan adanya gugus C-H aromatis, C=C, N=N, CN, S=O, CO dan adanya substituen orto, meta, para. Berdasarkan analisis spektroskopi dan titik leleh tersebut dimungkinkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah 4-amino-3-(4-hidroksifenilazo)benzenasulfonamida. Struktur hasil sintesis akan dikonfirmasi lanjut dengan analisis H-NMR.

Kata Kunci: Sintesis, Senyawa Azo, p-aminofenol, sulfanilamida

PENDAHULUAN

Sintesis senyawa banyak dikembangkan sebagai jalur penemuan senyawa baru dan/ atau duplikasi senyawa tertentu yang mahal dan sulit didapat (McMurry, 1992). Teknik sintesis dilakukan melalui penggabungan molekul dengan reagen tertentu, interkoneksi gugus fungsi, dan proteksi gugus fungsi tertentu dari material awalnya (Warren, 1982). Sintesis yang banyak dikembangkan beberapa tahun terakhir adalah senyawa azo, yaitu senyawa yang memiliki gugus azo ($-N=N-$). Berbagai jenis senyawa azo digunakan secara luas sebagai pewarna (Pandey, 2007), indikator (Suirta, 2010), dan zat antibakteri (Piste1, 2012). Senyawa azo disintesis melalui reaksi diazotisasi untuk menghasilkan garam diazonium, dilanjutkan dengan reaksi kopling azo. Reaksi diazotisasi membutuhkan prekursor berupa senyawa amina primer yang diperlakukan dengan natrium nitrit dalam kondisi asam. Reaksi diazotisasi dilakukan pada suhu 0–5°C untuk menjaga kestabilan garam diazonium yang mudah hilang sebagai N_2 (gas nitrogen). Sedangkan senyawa yang cenderung nukleofil dalam kondisi basa dibutuhkan dalam reaksi kopling azo. Reaksi kopling azo serupa dengan reaksi substitusi elektrofilik aromatik, dimana atom N di ujung garam diazonium sebagai elektrofil dan cincin benzena aktif sebagai nukleofil (Bruice, 2004).

p-aminofenol, salah satu senyawa amina primer yang bersifat analgesik kuat. p-aminofenol digunakan sebagai prekursor obat parasetamol dan sintesis pewarna yang baik untuk poliester dan nilon (Otutu *et al.*, 2008). Sulfanilamida (4-aminobenzenasulfonamida) merupakan cincin benzena aktif sebagai zat antibakteri melalui reaksi inhibisi kompetitif (Siswandono. 1995). Senyawa azo dari

sulfanilamida menunjukkan kinerja baik pada pencelupan wol dan serat nilon serta tahan terhadap luncur cahaya (Otutu *et al.*, 2008). Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan studi tentang sintesis senyawa azo dari p-aminofenol dengan sulfanilamida kemungkinan bereaksi menghasilkan senyawa azo (lihat gambar 1). Reaksi kopling antara ion diazonium dengan sulfanilamida terjadi pada atom C, posisi orto dari gugus $-NH_2$ dan posisi meta dari $-SO_2NH_2$ dalam reaksi substitusi elektrofilik aromatik.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Gelas beker 150 mL; labu ukur 100 mL; gelas ukur 10 mL; erlenmeyer 150 mL; pipet volume 10 mL, pipet tetes; neraca analitik; corong buchner; *hot plate*; *stirrer*; gelas arloji; kolom kromatografi; pipa kapiler bejana KLT, dan spektrometer (UV-Vis, IR, NMR).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: p-aminofenol (Merck); natrium nitrit (Merck); asam klorida (Merck); sulfanilamida (Merck); akuades; natrium hidroksida (Merck); metanol (Merck); kloroform (Merck); aseton (Sigma-Aldrich); heksana (Merck); kertas saring; aluminium foil; plat tipis silika gel F₂₅₄ (Merck), dan silika gel (Merck).

Reaksi diazotisasi (pembentukan garam diazonium)

Serbuk p-aminofenol sebanyak 1,1 g (0,01 mol) dilarutkan ke dalam 5 mL HCl pekat, kemudian diencerkan dengan 5 mL akuades di dalam penangas es (suhu 0-5 °C). Sementara itu, 1,0 g NaNO₂ dilarutkan

dalam 5 mL akuades di dalam penangas es (suhu 0-5 °C). Kondisikan kedua larutan tetap dingin, kemudian larutan NaNO₂ ditambahkan perlahan ke dalam larutan p-aminfenol dengan pengadukan selama 10 menit. Sebanyak 10-15 g es ditambahkan selama reaksi (Kar, 2004).

Reaksi Kopling (pembentukan senyawa azo)

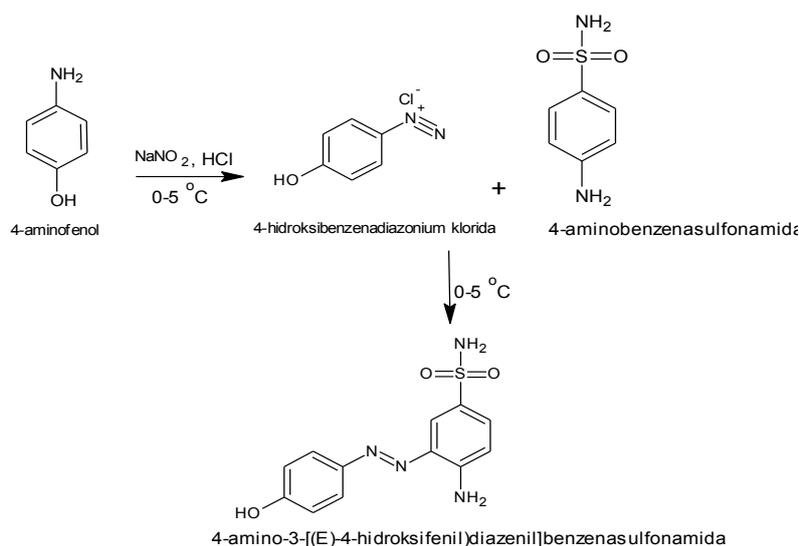
Serbuk sulfanilamida sebanyak 1,72 g (0,01 mol) dilarutkan dalam 10 mL NaOH 10% sebagai larutan pengkopling. Larutan dikondisikan dingin kemudian dituang ke larutan garam diazonium sesegera mungkin. Reaksi kopling dilakukan dalam erlenmeyer 150 mL yang ditutup aluminium foil seluruh dindingnya. Reaksi dilakukan di penangas es (suhu 0-5 °C) sambil diaduk selama 5 menit. Pengadukan saat reaksi kopling juga dilakukan selama 15, 30, 60, dan 120 menit untuk mengetahui waktu optimal yang menghasilkan rendemen tertinggi. Endapan (*crude*) yang terbentuk disaring dengan corong Buchner.

Pemurnian Senyawa Azo

Endapan (*crude*) dilarutkan ke dalam berbagai pelarut untuk memperoleh pelarut rekristalisasi yang baik. Pelarut yang dipilih harus melarutkan sampel dengan baik namun tidak melarutkan pengotor, atau sebaliknya. Jika pelarut hanya dapat melarutkan sampel dalam keadaan panas maka larutan disaring panas-panas dan filtratnya dibiarkan mengkristal dalam keadaan dingin. Selanjutnya diambil endapan sebagai senyawa azo yang lebih murni, dikeringkan di suhu ruang dan ditimbang beratnya.

$$\% \text{ Rendeman} = \frac{\text{massa produk eksperimen}}{\text{massa produk teoritis}} \times 100\%$$

Jika rekristalisasi tidak dapat memurnikan *crude* azo dengan baik, maka dilakukan kromatografi kolom. Tampung per fraksi dikonfirmasi kemurniannya melalui spot yang terbentuk pada KLT yang dibandingkan dengan spot *crude* azo.



Gambar 1. Hipotesis reaksi sintesis azo dari p-aminofenol dengan sulfanilamida.

Penentuan Titik Leleh

Uji titik leleh dilakukan dengan pipa kapiler. Senyawa azo yang terbentuk terlihat jelas sedangkan noda tidak murni dimasukkan ke dalam pipa kapiler dan dipanaskan ke dalam alat *melting point*. Temperatur leleh dicatat saat padatan mulai meleleh hingga seluruhnya meleleh.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis KLT untuk mengetahui kemurnian senyawa azo dibandingkan *crudenya* melalui spot yang terbentuk pada kromatogram. Fraksi – fraksi senyawa azo dan *crudenya* dilarutkan dalam aseton kemudian ditotolkan pada plat KLT F₂₅₄ dengan jarak antar totolan yaitu 0,5 cm. Plat silika hasil penotolan dimasukkan ke dalam *chamber* yang sudah dijenuhkan oleh fase gerak yaitu campuran aseton: heksana (3:7 v/v). Fase gerak dibiarkan mengelusi senyawa azo hingga batas atas plat

yang diinginkan. Plat diangin – anginkan sehingga spot yang terbentuk terlihat jelas sedangkan noda tidak berwarna dilihat di bawah lampu UV. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan nilai R_f senyawa azo, *crude*, dan material awal yang digunakan.

Analisis Spektrofotometri UV-Vis

Scanning panjang gelombang absorbansi maksimum (λ_{max}) merupakan analisis kualitatif. Senyawa azo dilarutkan dalam pelarut metanol sebagai blanko. Data *scanning* berupa pola spektrum dengan puncak-puncak tertentu sebagai λ_{max} suatu kromofor.

Analisis Spektrofotometri IR

Gugus-gugus fungsional pada senyawa azo hasil sintesis. dapat diketahui melalui analisis dengan

spektrometer IR. Senyawa azo murni ditempatkan di wadah sampel untuk dianalisis. Hasil analisis berupa spektra IR dengan frekuensi tertentu yang menyatakan serapan suatu gugus fungsi.

Analisis Spektrofotometri NMR

Senyawa azo murni dilarutkan dalam aseton-D₆. Larutan sampel ditambah sedikit TMS (tetrametilsilan) sebagai standar, kemudian dimasukkan ke wadah sampel dan diputar di sumbu magnet. Spektrum data NMR berupa geseran kimia (dalam Hz) ¹H-NMR yang menyatakan lingkungan proton dalam molekul.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Senyawa Azo dari p-aminofenol dengan Sulfanilamida

Sintesis senyawa 4-amino-3-(4-hidroksifenilazo) benzena sulfonamida didasarkan pada reaksi kopling antara garam diazonium klorida dengan sulfanilamida pada suasana basa. Pendinginan kuat, terlindung dari cahaya, dan keasaman tinggi saat kopling berperan untuk menjaga stabilitas dan menghindari dekomposisi senyawa azo. Variasi waktu kopling sangat berpengaruh terhadap keberhasilan pembentukan senyawa azo (lihat Tabel 1). Waktu kopling yang singkat yaitu 5, 15, dan 30 menit tidak dapat membentuk senyawa azo baru dilihat dari kromatogram KLT. Keberhasilan sintesis terjadi pada waktu kopling 60 menit dan 120 menit yang dikonfirmasi dengan adanya spot baru yang Rf-nya berbeda dengan bahan-bahan awal yang digunakan (lihat gambar 2). Hal ini disebabkan lemahnya nukleofilitas sulfanilamida sehingga waktu kopling yang lama akan memberikan kesempatan untuk garam diazonium bereaksi dengan sulfanilamida lebih banyak. Hasil sintesis berupa crude lengket berwarna coklat kemerahan setelah disaring menggunakan buchner tanpa proses pencucian. Senyawa crude azo dimurnikan melalui kolom kromatografi dengan eluen aseton: heksana (2,5: 7,5) menghasilkan padatan berwarna kuning dan orange dengan rendemen 30,2% dan 41,3 %.



Gambar 2. Kromatogram KLT menunjukkan Rf crude azo yang berbeda dengan Rf bahan – bahan awal.

Analisis Spektrofotometri IR (Infrared)

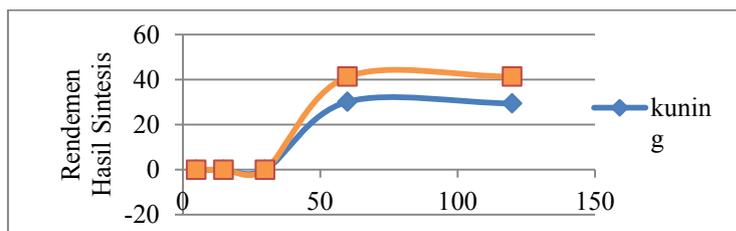
Senyawa azo murni diperkirakan strukturnya menggunakan spektrofotometri IR (FTIR ATR) untuk mengetahui gugus – gugus fungsi yang muncul. Spektra IR menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis mempunyai stretching gugus N-H primer (3300 – 3100) cm⁻¹, gugus azo N=N (1595 – 1490) cm⁻¹, gugus C=C aromatik (1600) cm⁻¹, stretching C-H sp³ (2900 – 3000) cm⁻¹, gugus sulfonat S=O (1375 – 1300) cm⁻¹, bending N=N (1400 – 1410) cm⁻¹, gugus keton C=O (1720 – 1730) cm⁻¹, orto disubstitusi (750) cm⁻¹, meta disubstitusi (690, 780, 880) cm⁻¹, para disubstitusi (800 – 850) cm⁻¹, stretching C-N amina (1350 – 1250) cm⁻¹ (lihat Gambar 4).

Analisis spektrofotometri UV – Vis

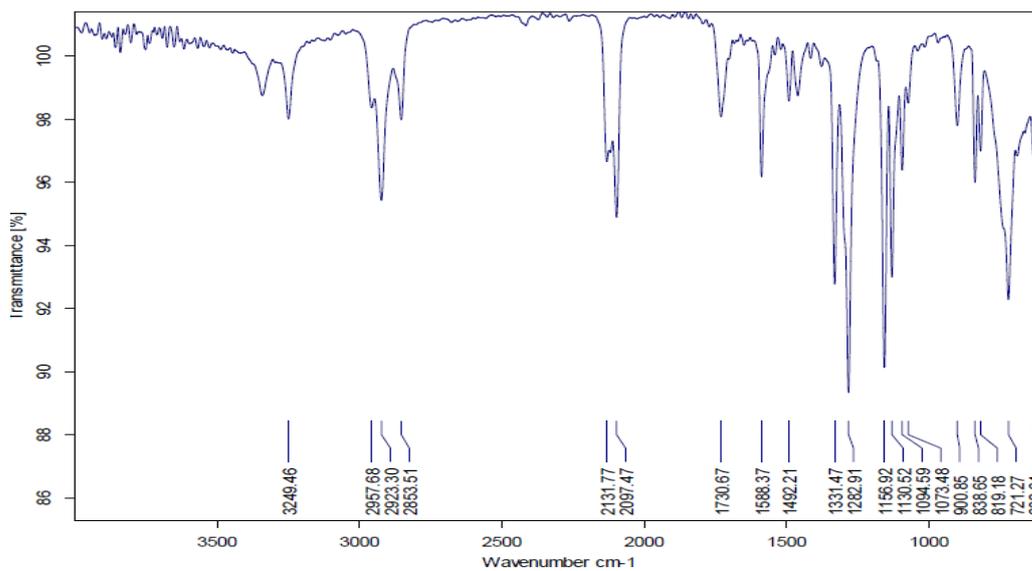
Senyawa azo murni dianalisis secara kualitatif melalui *scanning* panjang gelombang absorbansi maksimum (λ max). Senyawa azo kuning menunjukkan absorbansi puncak (260 dan 206) nm. Sedangkan senyawa azo orange menunjukkan absorbansi puncak pada 264 nm. Daerah serapan pada 206 nm menunjukkan transisi elektronik (Π - Π^*) benzena dan gugus azo aromatik (N=N) sedangkan 260 nm untuk transisi elektronik (n- Π^*). Spektrum serapan UV dapat dilihat pada Gambar 5.

Tabel 1. Rendemen sintesis berdasarkan variasi waktu kopling.

Waktu kopling	Berat crude dan berat fraksi	Rf		Tm
		1	2	
5 menit	1,14 g (39 %)	0,42		165 – 168 °C
15 menit	1,07 g (36,6 %)	0,42		165 – 168 °C
30 menit	1,24 g (42,5 %)	0,42		165 – 168 °C
60 menit	1,16 g (39,7 %)	0,62	0,45	112 dan 156 °C
	K = 0,35 g (30,2 %) O = 0,48 g (41,3 %)			
120 menit	1,26 g (43,1 %)	0,62	0,45	112 dan 156 °C
	K = 0,37 g (29,4 %) O = 0,52 g (41,3 %)			



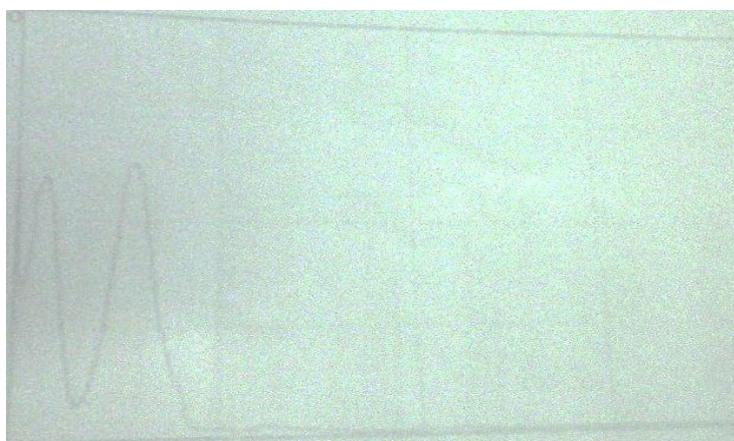
Gambar 3. Grafik jumlah rendemen berdasarkan variasi waktu kopling.



Gambar 4. Spektra IR senyawa azo kuning

Tabel 2. Sifat fisik dan kimia senyawa azo dengan bahan awal

Senyawa	Kelarutan	Titik leleh	Bentuk dan Warna
p-aminofenol	Air dan metanol	190 °C	Padatan ungu
sulfanilamida	Air dingin	165 °C	Padatan putih
Senyawa azo kuning	Metanol dan aseton	112 °C	Padatan kuning
Senyawa azo orange	Metanol dan aseton	156 °C	Padatan orange



Gambar 5. Spektrum UV-Visible senyawa azo kuning

Dari hasil optimasi waktu kopling terhadap jumlah rendemen sintesis, waktu kopling 60 menit menunjukkan waktu optimum sintesis pada penelitian ini (lihat Gambar 3).

Karakterisasi Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa hasil sintesis dikarakterisasi sifat fisik dan kimianya, kemudian dibandingkan dengan sifat – sifat bahan awal untuk mengetahui keberhasilan sintesis bahan baru (lihat Tabel 2)

KESIMPULAN

Sintesis senyawa azo dari p-aminofenol dengan sulfanilamida menghasilkan padatan kuning dan orange dengan rendemen masing – masing 30,2 % dan 41,3%. Waktu kopling optimum sintesis yaitu 60 menit. Karakteristik senyawa azo kuning berupa: titik leleh 112°C, larut dalam aseton, nilai Rf 0,62. Sedangkan senyawa azo orange berupa: titik leleh 156°C, larut dalam aseton, nilai Rf 0,45.

DAFTAR PUSTAKA

- McMurry, J. 1992. *Organic Chemistry. 3rd edition.* Brooks/Cole Publishing Company. Callifornia.
- Warren, S. 1982. *Organic Synthesis: The Disconnection.* New York: Approach, John Wiley & Sons Ltd. Wade, 2006
- Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L. 2007. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 59: 73–84.
- Suirta, I W. 2010. Sintesis Senyawa Orto-Fenilazo-2-Naftol Sebagai Indikator Dalam Titrasi. *Jurnal Kimia* 4 (1): 27-34.
- Pistel, MRS. P., Indalkar, D.P., Dnyandev N.Z., And Pankaj S.M. 2012. Synthesis and Antimicrobial Activity Of Substituted P-Amino Azobenzene With Thymol Moiety- A Green Protocol. *International Journal of Chemistry Research.* 3 (2): 25-29.
- Bruice, P.Y. 2004. *Organic Chemistry 4th Edition.* Pearson Prentice.
- Otutu, J O., Ukoro D. and Ossay, E K. 2008. Preparation of Dis-Azo Dyes Derived from p-Aminophenol and Their Fastness Properties for Synthetic Polimer-Fibres. *Journal of Applied Sciences.* 8 (2): 334-339.
- Siswandono. 1995. *Kimia Medisinal Edisi I.* Airlangga university Press. Surabaya.
- Patel, BK., Prajapati, NK., and Patel, DG. 2013. Synthesis, characterization and spectral study of chelating azo dyes containing salicylic acid ligand. *Pelagia Research Library. Der Chemica Sinica.* 4 (6): 70-72.
- Kar, A. 2004. *Advanced Practical Medicinal Chemistry: Theory Methodology Purification Usages.* New Age International (P) Ltd., Publishers.

Pola Pertumbuhan Kristal ZIF-8 Hasil Sintesis Secara Solvotermal Pada Suhu Rendah

Yudi Aris Sulistiyo¹⁾, Ratna Edianti^{2)*}, Muhammad Nadjib²⁾, dan Didik Prasetyoko²⁾

¹⁾Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Jember, Indonesia

²⁾Jurusan Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, Indonesia

*Email: rediati@chem.its.ac.id

ABSTRAK

Zeolitic Imidazolate Frameworks-8 (ZIF-8) telah disintesis dengan metode solvotermal dengan pelarut N,N'-dimetilformamida (DMF) pada suhu 100 °C, serta variasi waktu sintesis 6 – 216 jam. Berat padatan hasil sintesis semakin bertambah secara signifikan dengan meningkatnya waktu sintesis sampai 168 jam, kemudian konstan pada waktu sintesis 216 jam. Hasil karakterisasi dengan difraksi sinar-X menunjukkan bahwa padatan hasil sintesis dengan waktu solvotermal 36-216 jam menunjukkan puncak-puncak karakteristik dari Kristal ZIF-8, yaitu puncak-puncak pada sudut $2\theta = 7,29^\circ$ dengan intensitas kuat; $10,32^\circ$ dan $12,65^\circ$ dengan intensitas sedang; serta sudut $2\theta = 16,50^\circ$ dan $18,10^\circ$ dengan intensitas lemah. Disamping itu, kristalinitas ZIF-8 meningkat dengan bertambahnya waktu sintesis sampai 72 jam, kemudian turun lagi secara signifikan pada waktu sintesis 216 jam. ZIF-8 dengan kristalinitas tertinggi dicapai dengan waktu sintesis selama 72 jam. Penggunaan waktu sintesis lebih lama dari 168 jam dapat menurunkan kristalinitas akibat kristal mengalami agregasi menjadi lebih besar, sehingga bentuknya tidak beraturan. Spektra FT-IR semua padatan hasil sintesis memiliki puncak-puncak serapan karakteristik ZIF-8.

Kata Kunci: Kristalinitas, *Zeolitic Imidazolate Frameworks-8* (ZIF-8), solvotermal

PENDAHULUAN

Zeolitic imidazolate frameworks-8 (ZIF-8) adalah sub-kelompok *metal organic frameworks* yang merupakan material dengan kristalinitas dan luas permukaan yang tinggi. ZIF-8 pertama kali berhasil disintesis dengan mereaksikan antara logam atau kluster logam Zn dan ligan penghubung 2-metilimidazolat (MeIm) (Venna et al., 2010). Struktur ZIF-8 yang terbentuk adalah jaringan-jaringan kluster ZnN_4 tetrahedral dengan sudut ikatan Zn-MeIm-Zn mendekati 145° dengan tingkat keteraturan yang sangat tinggi (Hayashi et al., 2007). Tingginya keteraturan struktur penyusunnya menyebabkan ZIF-8 mempunyai derajat kristalinitas yang tinggi, sehingga, ZIF-8 mempunyai kestabilan termal dan kimia yang relatif lebih tinggi dibanding jenis MOF lainnya (Pan et al., 2011). Struktur ZIF-8 paling banyak dipelajari karena potensi aplikasinya sebagai katalis (Chizalet et al., 2010) serta material penyimpan dan pemisahan gas (Bux et al., 2009; Huang et al., 2011).

ZIF-8 pertama kali disintesis oleh Yaghi et al. (2006) pada suhu sintesis 85 – 150 °C menggunakan pelarut N,N-Dimetilformamida (DMF). Pemilihan pelarut DMF dikarenakan struktur kristal ZIF-8 mempunyai stabilitas termal yang lebih baik dibanding dengan jenis pelarut lain seperti metanol (Park et al., 2006). Perbandingan molaritas antara Zn dan MeIm dengan metode solvotermal adalah 1:1 (Nguyen et al., 2011). Sedangkan sintesis ZIF-8 secara hidrotermal membutuhkan perbandingan molaritas 1:70. Disisi lain, penggunaan pelarut selain DMF menyebabkan laju pembentukan kristal ZIF-8 berjalan sangat lambat dan

membutuhkan waktu yang lebih panjang. Berdasarkan data perbandingan molaritas dan laju pembentukan kristal, metode solvotermal dengan DMF dinilai memiliki nilai ekonomis yang lebih besar.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap kristalinitas ZIF-8 yaitu penggunaan variasi waktu sintesis solvotermal. Variasi waktu sintesis ZIF-8 secara hidrotermal menunjukkan hasil kristalinitas optimum tercapai setelah reaksi berlangsung selama 24 jam dan peningkatan waktu reaksi yang lebih lama tidak memberikan perubahan terhadap struktur kristal dalam ZIF-8 (Venna et al., 2010). Sintesis jenis MOF lain dengan metode solvotermal, Choi et al. (2008) melaporkan pengaruh suhu (95 – 125 °C) dan waktu sintesis terhadap kristalinitas M-MOF-5 (Zn-H₂BDC) menunjukkan bahwa semakin lama waktu sintesis proses pembentukan kristal terjadi semakin cepat dan persentase kristalinitas relatif semakin menurun. Hasil sintesis HKUST-1 (Cu-H₃BTC) dengan variasi waktu sintesis menunjukkan bahwa persentase yield meningkat dengan meningkatnya waktu reaksi dan yield optimum tercapai pada waktu sintesis 300 jam. Penggunaan waktu yang lebih lama menghasilkan persentase yield konstan (Biemmi et al., 2009). Berdasarkan uraian tersebut, pola pertumbuhan kristal ZIF-8 berdasarkan perbedaan waktu sintesis pada suhu 100 °C dengan pelarut DMF dipelajari pada penelitian ini.

METODE PENELITIAN

Bahan

Material yang digunakan untuk mensintesis ZIF-8 adalah bahan kimia komersial tanpa dimurnikan terlebih dahulu berikut ini: zinc nitrat heksahidrat ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); 2-Metilimidazol (Me-Im), N,N-dimetilformamida (DMF) dan metanol.

Metode

Sintesis ZIF-8

ZIF-8 disintesis dengan melarutkan 1.194 gram $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 0,7475 gram 2-metilimidazol dalam 15 ml N,N'-dimetilformamida (DMF) di dalam gelas vial tertutup dan dilakukan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik selama beberapa menit hingga larutan homogen. Langkah selanjutnya adalah pemanasan larutan dalam oven pada suhu 100°C dengan laju pemanasan $5^\circ\text{C}/\text{min}$ menggunakan variasi waktu pemanasan yang telah ditentukan. Setelah proses pemanasan, dilakukan pendinginan hingga suhu kamar. Endapan yang terbentuk kemudian didekantasi dan ditambahkan 15 ml metanol dan dibiarkan selama dua hari. Kemudian dilakukan proses pemanasan menggunakan oven vakum pada suhu 80°C selama 1 jam.

Karakterisasi ZIF-8

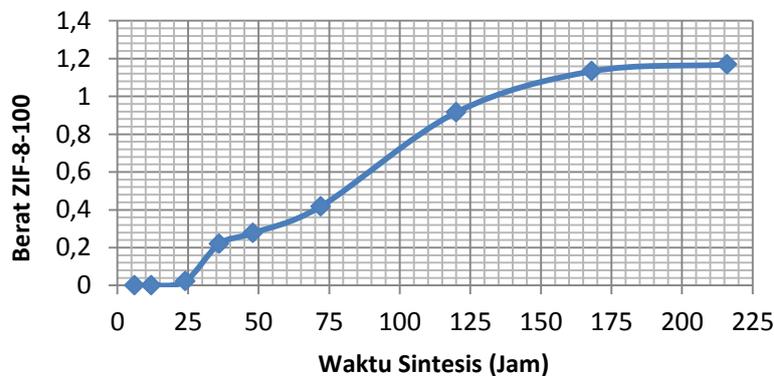
Sekitar 0,5 gram ZIF-8 hasil sintesis ditempatkan pada sample holder, kemudian disinari dengan sumber sinar Cu $K\alpha$ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$) pada 40 kV dan 30 mA dengan skala 2θ sebesar $5-40^\circ$ dan kecepatan scan $0,020^\circ/\text{detik}$. Data yang diperoleh berupa harga d spacing, 2θ dan intensitas puncak difraksi dari sampel. Data tersebut kemudian dicocokkan dengan referensi. Kristalinitas diukur dengan menghitung luas 3 puncak utama difraktogram ZIF-8 menggunakan software origin.

Penentuan struktur dengan XRD dari hasil sintesis ZIF-8 dikonfirmasi dengan spektrofotometer Fourier transform infrared (FTIR). Spektre FTIR direkam pada bilangan gelombang $400 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ dengan resolusi 4 cm^{-1} .

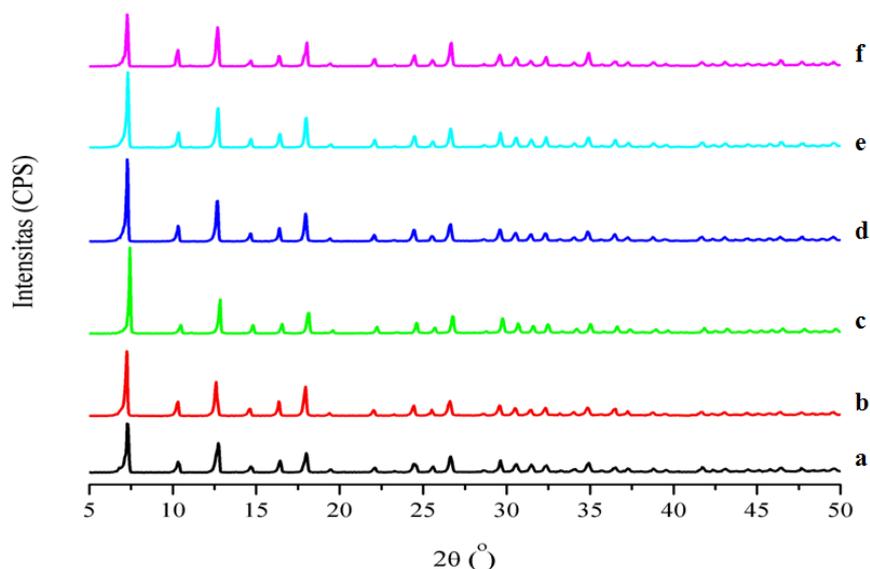
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis padatan ZIF-8 dimulai dengan pelarutan 0.0039 mol $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 0.0090 mol 2-metilimidazol (2-MeIm) dalam 0.3704 mol pelarut dimetilformamida (DMF) dalam botol vial tertutup. Proses kristalisasi yang dilakukan pada suhu 100°C selama 24 jam menghasilkan padatan berwarna kuning pucat pada dinding reaktor. Kristal yang dihasilkan didinginkan pada suhu kamar dan disaring untuk memisahkan pelarut dan material ZIF-8. Padatan ZIF-8 dicuci dengan metanol untuk menghilangkan sisa pelarut DMF yang masih terikat. Padatan diambil dan dikeringkan untuk menghilangkan metanol yang tertinggal. Kristal yang diperoleh berupa Kristal putih dengan berat 0,1306 gram. Selanjutnya, proses sintesis yang sama dilakukan pada variasi waktu 6 – 216 jam dengan suhu solvothermal 100°C .

Pola pertambahan berat kristal yang disintesis secara solvothermal pada suhu 100°C dengan bertambahnya waktu, disajikan dalam Gambar 1. Pembuktian pola pembentukan kristal ZIF-8 pada suhu 100°C dapat diketahui berdasarkan difraktogram sinar-X yang ditampilkan dalam Gambar 2. Pola difraktogram sinar-X menunjukkan yaitu puncak utama pada sudut $2\theta = 7,29^\circ$ dengan intensitas kuat; sudut $2\theta = 10,32^\circ$ dan $12,65^\circ$ dengan intensitas sedang; serta sudut $2\theta = 16,50^\circ$ dan $18,10^\circ$ dengan intensitas lemah. Lima puncak karakteristik difraktogram menunjukkan bahwa kristal ZIF-8 telah berhasil disintesis karena sesuai dengan difraktogram referensi yang telah dilaporkan oleh kelompok peneliti Yaghi et al. (2006).



Gambar 1. Profil pengaruh waktu reaksi terhadap berat kristal pada suhu 100°C



Gambar 2. Pola difraksi Sinar-X (a) ZIF8-100-36, (b) ZIF8-100-48, (c) ZIF8-100-72, (d) ZIF8-100-120, (e) ZIF8-100-168, (f) ZIF8-100-218

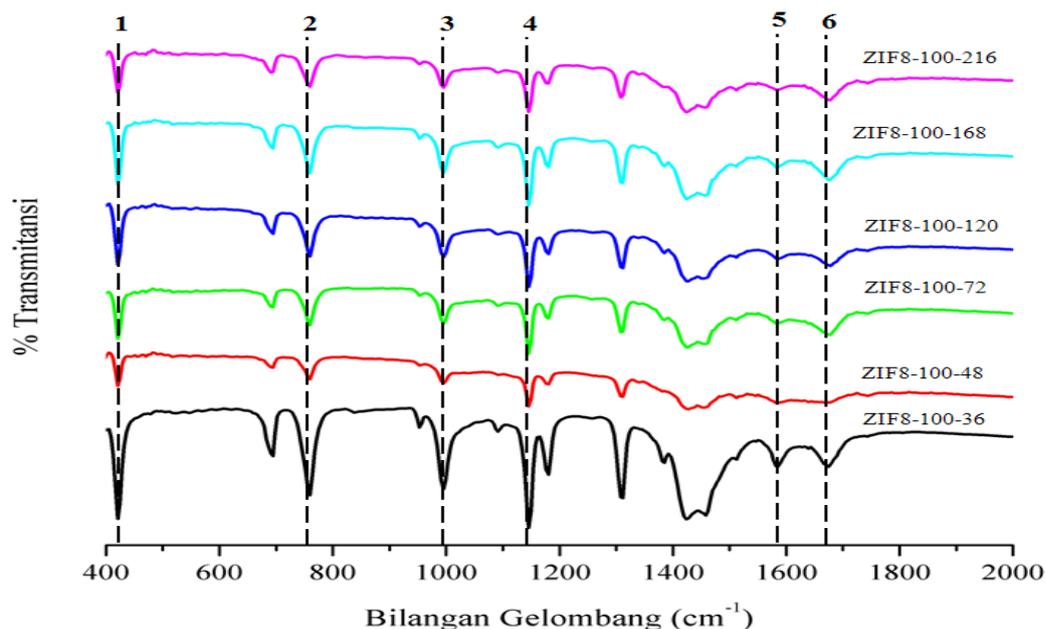
Kristalinitas dari kristal hasil sintesis ditentukan melalui perhitungan persentase kristalinitas relatif berdasarkan metode perhitungan yang digunakan oleh Venna dkk. (2010). Perhitungan persen kristalinitas tiap sampel dilakukan dengan membagi luas total daerah dibawah kurva dengan total luas sampel yang mempunyai daerah dibawah kurva paling besar yang digunakan sebagai standar dengan diasumsikan memiliki kristalinitas = 100%. Puncak yang digunakan adalah daerah $2\theta = 7,32; 12,7$ dan $18,00$, hasil yang diperoleh ditabulasikan pada Tabel 1. Pada $t < 24$ jam terjadi fase pembentukan inti kristal yang belum dapat diamati karena belum terbentuk endapan kristal. Kristalinitas meningkat mulai dari waktu solvotermal 24

- 72 jam yang menunjukkan terjadinya fase pertumbuhan kristal, dimana terjadi penataan struktur menjadi lebih teratur. Selain itu, peningkatan waktu solvotermal telah meningkatkan laju pembentukan fasa kristalin dari fase yang metastabil menjadi fase kristalin (Venna dkk., 2010). Fase ketiga menunjukkan fase stasioner (tetap) dan tidak terjadi pertumbuhan kristal lebih lanjut yang terjadi pada $t > 72$ jam. Namun, berdasarkan difraktogram pada Gambar 2, dapat diamati terjadinya penurunan kristalinitas pada puncak sudut $2\theta = 7,32^\circ$. Penurunan tersebut terjadi karena kristal ZIF-8 yang telah terbentuk berubah menjadi bentuk yang lebih tidak teratur akibat mulai rusaknya struktur kerangka ZIF-8 yang terbentuk.

Tabel 1. Hubungan Kristalinitas ZIF-8 dengan Waktu Sintesis

Sampel	Luas Area Total	Kristalinitas Relatif (%)
ZIF8-100-36	956,29	79,87
ZIF8-100-48	1046,57	87,41
ZIF8-100-72	1197,3 ^(*)	100
ZIF8-100-120	1158,72	96,78
ZIF8-100-168	1170,65	97,77
ZIF8-100-216	931,8	77,83

^(*) kristalinitas dianggap 100%



Gambar 3. Spektra FTIR Kristal ZIF-8 hasil sintesis pada suhu solvotermal 100 °C selama 36 – 216 jam.

Penentuan keberhasilan sintesis kristal ZIF-8 juga dikonfirmasi berdasarkan gugus fungsi penyusunnya yang dianalisis berdasarkan spektra FTIR yang ditampilkan dalam Gambar 3. Pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1586 cm^{-1} dengan intensitas lemah merupakan vibrasi tekuk C=N (puncak 5). Semakin besar lama pemanasan yang digunakan, intensitas puncak semakin lemah. Hal tersebut menunjukkan adanya logam Zn yang terikat pada atom N dari senyawa pengikat metil imidazolat, sehingga jumlah ikatan C=N menjadi semakin kecil yang diperkuat adanya pita serapan ulur C-N aromatis (puncak 4) pada daerah bilangan gelombang 1.146 cm^{-1} dan vibrasi tekuk C-N pada daerah bilangan gelombang 997 cm^{-1} (puncak 3). Selain itu, munculnya pita serapan pada daerah bilangan gelombang 423 cm^{-1} dengan intensitas kuat menunjukkan adanya vibrasi ulur Zn-N (puncak 1), yang dapat memperkuat pembuktian penurunan ikatan C=N. Pita serapan vibrasi ulur C=C ditunjukkan pada bilangan gelombang 1.682 cm^{-1} (Puncak 6) (Ordoñez dkk., 2010). Pita serapan dengan intensitas kuat pada daerah 760 cm^{-1} menunjukkan vibrasi tekuk C-H (puncak 2). Kesesuaian hasil perbandingan spektra FTIR kristal hasil sintesis dengan spektra FTIR ZIF-8 pada referensi menunjukkan keberhasilan dalam sintesis kristal ZIF-8.

KESIMPULAN

Kristal ZIF-8 berhasil disintesis dengan metode solvotermal pada suhu 100 °C selama 36 – 216 jam. Pada suhu 100 °C dengan waktu sintesis 6-24 jam, Kristal ZIF-8 belum terbentuk. Hasil karakterisasi dengan XRD menunjukkan bahwa puncak-puncak karakteristik ZIF-8 teramati Kristal hasil sintesis pada

suhu 100 °C dengan waktu sintesis 36 – 216 jam, yaitu daerah $2\theta = 7,32^\circ; 10,36^\circ; 12,68^\circ; 16,44^\circ$ dan $18,00^\circ$. Spektra FTIR Kristal hasil sintesis pada suhu 100 °C dengan waktu sintesis 36 – 216 jam menunjukkan puncak-puncak serapan gugus fungsi utama ZIF-8 yaitu puncak pada daerah bilangan gelombang 423 cm^{-1} ; 760 cm^{-1} ; 997 cm^{-1} ; 1.146 cm^{-1} ; 1.586 cm^{-1} ; 1.682 cm^{-1} . Kristalinitas meningkat dengan waktu solvotermal dan mencapai optimum pada 72 jam yang diikuti penurunan intensitas puncak spektra FTIR.

DAFTAR PUSTAKA

- Banerjee, R., Phan, A., Wang, B., Knobler, C., Furukawa, H., O’Keeffe, M. dan Yaghi, O. M. 2008. High-Throughput Synthesis of Zeolitic Imidazolate Frameworks and Application to CO₂ Capture. *Science*.319: 939-943.
- Biemmi, E., Christian, S, Stock, N. dan Bein, T. 2009. High-throughput screening of synthesis parameters in the formation of the metal-organic frameworks MOF-5 and HKUST-1. *Microporous and Mesoporous Materials*.117: 111–117.
- Bux, H., Liang, F., Li, Y., Cravillon, J., Wiebcke, M. dan Caro, J. 2009. Zeolitic Imidazolate Framework Membrane with Molecular Sieving Properties by Microwave-Assisted Solvo thermal Synthesis. *Journal of American Chemical Society*.131: 16000–16001.
- Chizalet, C., Lazare, S., Bazer-Bachi, D., Bonnier, F., Lecocq, V., Soyer, E., Quoineaud, A. A. dan Bats, N. 2010. Catalysis of Transesterification by a Nonfunctionalized Metal-Organic Framework: Acido-Basicity at the External Surface of ZIF-8 Probed by FTIR and ab Initio Calculations”.

- Journal of American Chemical Society*. 132: 12365–12377.
- Choi, J S., Son, W. J., Kim, J. dan Ahn, W. S. 2008. Metal-organic framework MOF-5 prepared by microwave heating: factors to be considered. *Microporous and Mesoporous Materials*.116: 723-731.
- Hayashi, H., Côté A.P., Furukawa H., O'Keeffe M., Yaghi O.M. 2007. Zeolite A imidazolate frameworks. *Nature Materials*. 6: 501-5066.
- Huang, H., Zhang, W., Liu, D., Liu, B., Chen, G., dan Zhong, C. 2011. Effect of temperature on gas adsorption and separation in ZIF-8: A combined experimental and molecular simulation study. *Chemical Engineering Science*. 66: 6297–6305.
- Li, L., Yao, J., Chen, R., He, L., Wang K. dan Wang, H. 2013. Infiltration of precursors into a porous alumina support for ZIF-8 membrane synthesis. *Microporous and Mesoporous Materials*.168: 15–18.
- Nguyen, L. T. L., Le, K. K. A. dan Phan, N. T. S. 2012. A Zeolite Imidazolate Framework ZIF-8 Catalyst for Friedel-Crafts Acylation. *Chinese Journal of Catalysis*.33: 688–696.
- Ordoñez, M. J. C., Balkus, K. J., Ferraris, J. P. dan Musselman, I. H. 2010. Molecular sieving realized with ZIF-8/Matrimid mixed-matrix membranes. *Journal of Membrane Science*.361: 28–37.
- Pan Y., Liu, Y., Zeng G., Zhao L. dan Lai Z. 2011. Rapid synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanocrystals in an aqueous system. *Chemical Communication*. 47: 2071–2073.
- Park K. S., Ni Z., Côte A. P., Choi J. Y., Huang R., Uribe-Romo F. J. , Chae H. K., O'Keeffe M., and Yaghi O. M. 2006. *Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 27: 10186–10191.
- Venna, S. R., Jasinski, J. B. dan Carreon, M. A. 2010. Structural Evolution of Zeolitic Imidazolate Framework-8. *Journal of American Chemical Society*. 132: 18030–18033.

Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon dalam Sawi Hijau (*Brassica juncea L.*)

Yeni Maulidah Muflihah*, Aniesa Fithria, Dwi Indarti

Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember

*Email: yeni.maulidah@gmail.com

ABSTRAK

Densitometric thin layer chromatography, a simple, sensitive, and reproducible separation method has been used for analyzing diazinone residue from green mustard (*Brassica juncea L.*). The plants was sprayed by diazinone pesticide and harvested in vary period. Diazinone from samples were isolated by maceration method using n-hexane as solvent. Qualitative and quantitative analysis were performed on an aluminum plate that coated with silica gel 60 F254 as a stationary phase. Elution were carried out at room temperature with elution length of 9.5 cm in a 10 cm x 5 cm x 10 cm chamber and volume of 40 μ L. Eluen was a mixture of hexane: ethyl acetate (18: 1,v /v), Camag 3 densitometric scanner was used to scan the chromatogram generated at a wavelength of 247 nm. The resulting data showed Rf value for diazinon either a standard or a sample was 0.298 ± 0.0035 . Linearity obtained at range of concentration 40 ng to 320 ng, with a correlation coefficient of 0.974. A detection limit (LOD) of 88.44 ng/spot and the limit of quantitation (LOQ)268.03 ng/spot. Recovery percentage for the addition of standard diazinon were 100.25%, 100% and 88.33%. Diazinone residue levels in greens mustard on days 1, 3, 5 and 7 days after spraying diazinon were respectively 0,305; 0,256; 0,019; and 0,017 mg / kg.

Keywords: TLC, diazinone, green mustard, densitometry

PENDAHULUAN

Diazinon (o,o-diethyl-o[2-isopropil-6-metil pirimidinil]phosphorotioate) lebih dikenal dengan nama dagang Basudin, Dazzel, Nucidol, Spectracide, Diazinon 600 EC, Agrostar 600 EC dan Prozinon 600 EC, merupakan salah satu pestisida golongan organofosfat yang banyak digunakan untuk melindungi tanaman. Pemakaian pestisida diazinon pada tanaman sawi (*Brassica Juncea L.*) dapat meninggalkan residu yang terurai pada rentang waktu yang cukup lama, yaitu sekitar 8-35 hari (Permatasari, 2007). Residu pestisida yang dikonsumsi oleh manusia baik melalui hidung, kulit dan mulut, dapat mengikat enzim *cholinesterase*, yaitu enzim yang berfungsi mengatur kerja syaraf. Pengikatan enzim ini menimbulkan gangguan sistem saraf (Kamanyire and Karraliedde, 2004). Kuantitas residu pestisida pada tanaman ini ditentukan oleh jenis pestisida, dosis, frekuensi, dan waktu aplikasi (Afriyanto,2008). Hal lain yang mempengaruhi kuantitas residu pestisida pada tanaman adalah kondisi cuaca, suhu, dan pH lingkungan (Permatasari, 2007). Metode yang pernah digunakan untuk menganalisis residu pestisida diantaranya ekstraksi fasa padat (SPE) yang dilanjutkan dengan kromatografi gas-NPD (Garcia-Repetto, et.al, 2001, Kabir, et al., 2008). Olsson,et.al, (2003) menggunakan LC/EI tandem MS untuk menganalisis diazinon dalam urin manusia. Kromatografi cair tekanan tinggi (HPLC) juga digunakan untuk menganalisis diazinon (Mallet, 1990, Kamanyire, et.al, 2004, Abu-qare, and abu-qonia, 2001), dan penggunaan biosensor berbasis imobilisasi

(Azis, 2012). Selain HPLC dan GC, beberapa teknik kromatografi lain juga memungkinkan untuk digunakan sebagai metode analisis diazinon. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)-densitometri merupakan salah satu metode pemisahan yang lebih simple dan mampu menghasilkan pemisahan yang akurat untuk senyawa-senyawa yang tidak volatil dengan konsentrasi sangat kecil (dalam satuan mikro/semimikro) (Wonorahardjo, 2013). Penggunaan KLT-densitometri untuk penentuan diazinon pada tomat menunjukkan metode ini mampu untuk mendeteksi diazinon sampai konsentrasi 0,33 ng (Rista, 2014)

METODE PENELITIAN

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah pestisida organofosfat berbahan aktif diazinon 600 EC produksi PT Petrokimia Kayaku (Petrokimia Gresik Group), metanol p.a, Na₂SO₄ anhidrat, kertas saring, n-heksana p.a, etil asetat p.a, plat silika gel F254.

Bahan Sampel

Sawi hijau yang digunakan sebagai sampel ditanam menggunakan *polybag*, dan disemprot menggunakan pestisida diazinon 600 EC. Penyemprotan dilakukan pada hari ke-7 dan hari ke-28 setelah tanam. Pemanenan sampel dilakukan pada hari ke-1, 3, 5 dan 7 setelah penyemprotan kedua.

Preparasi Sampel.

Sawi hijau dipotong-potong kecil, dihaluskan menggunakan mortar. Sepuluh gram sawi hijau yang telah dihaluskan ditambahkan dengan 20 mL n-heksana dan 4,5 gram natrium sulfat anhidrat dimasukkan dalam *shaker bath* dengan kecepatan 150 rpm selama 6 jam. Larutan disaring, filtrat yang dihasilkan didistilasi vakum sampai seluruh pelarut menguap. Ditambahkan 5 mL n-heksana dalam labu alas bulat untuk melarutkan residu pada pada dinding labu.

Pemisahan Diazinon Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri

Analisis dengan kromatografi lapis tipis-densitometri menggunakan plat silika gel F₂₅₄ dengan panjang 10 cm. Bejana yang digunakan berukuran 10cmx10cmx5 cm, jarak antar totolan 1 cm, volume penotolan 40 µL menggunakan pipet mikro, eluen heksana:etil asetat dan dilakukan pada suhu ruang. Pemindaian dilakukan menggunakan Densitometer Camag 3 pada panjang gelombang 247 nm.

Penentuan Eluen Optimum

Larutan standar diazinon 4 ppm ditotolkan sebanyak 40 µL (1 µL untuk sekali totolan) pada plat KLT Silika Gel F₂₅₄. Penotolan dilakukan secara bertahap dengan proses pengeringan menggunakan *hair dryer*. Penotolan dengan jarak masing-masing titik adalah 1 cm. Plat KLT dielusi menggunakan campuran heksana:etil asetat dengan perbandingan volume 8:1; 10:1; 12:1; 14:1; 16:1; 18:1; 20:1 dan 22:1 dalam bejana (*chamber*) dengan ukuran 10 x 10 x 5 cm. Eluen didiamkan hingga batas, dikeringkan dan di pindai menggunakan densitometer untuk mengetahui nilai faktor retensi (Rf), kemurnian standart dan spot yang dihasilkan.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan diazinon standart 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 ppm masing-masing ditotolkan sebanyak 40 µL pada plat KLT yang sudah disiapkan, dengan jarak antar totolan 1 cm. Plat selanjutnya dielusi dalam bejana sampai batas (menggunakan eluen optimum). Plat selanjutnya di keringkan pada suhu ruang dan di analisis menggunakan densitometer.

Penentuan Kadar Residu Diazinon Pada Sawi Hijau

Ekstrak diazinon yang diperoleh ditotolkan pada plat KLT F₂₅₄ dengan jarak 1 cm antar spot. Masing-masing sebanyak 40 µL, dielusi menggunakan eluen campuran heksana:etil asetat (18:1), dan diulang 3 kali untuk setiap sampel (pemanenan hari ke-1,3,5 dan 7 setelah penyemprotan terakhir).

Validasi Metode Penentuan Residu Pestisida Diazinon Pada Sawi Hijau

Persen perolehan kembali (recovery). Sejumlah 2 mL larutan 4, 5, dan 6 ppm ditambahkan kedalam sampel sawi pemanenan hari ke-7 setelah penyemprotan, dan satu sampel yang sama tanpa penambahan standart

diazinon. Sampel selanjutnya diekstrak dan ditotolkan sebanyak 40 µL setiap penotolan pada plat KLT silika gel F₂₅₄. Selanjutnya dielusi menggunakan eluen campuran heksana:etil asetat (18:1), dan dianalisis menggunakan densitometer. Perhitungan perolehan kembali dapat juga ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{mf - ma}{ma} \times 100\%$$

Dengan:

m_f = massa total diazinon pengukuran

m_a = massa diazinon sampel kontrol

m*_a = massa diazinon yang ditambahkan

(Harmita, 2004).

Presisi.

Larutan diazinon dengan konsentrasi 4 ppm diuji menggunakan KLT-Densitometri pada 6 titik dan di hitung standart deviasinya. Nilai standart deviasi akan menunjukkan suatu metode presisi atau tidak.

Daerah Linier.

Larutan standart diazinon 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 ppm masing-masing ditotolkan sebanyak 40 µL pada plat KLT yang sudah disiapkan, dengan jarak antar totolan 1 cm. Plat selanjutnya dielusi dalam bejana sampai batas. Plat selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang dan dianalisis menggunakan densitometer.

Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantisasi (LOQ).

Nilai LOD dan LOQ diperoleh dari perhitungan statistik simpangan blanko. Blanko ditotolkan pada plat KLT, dielusi dan pindai dengan densitometer. Penotolan diulang sebanyak 6 kali, sehingga dapat dihitung nilai LOD dan LOQ. Persamaan LOD dan LOQ sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3 s(\frac{y}{x})}{b} \quad LOQ = \frac{10 s(\frac{y}{x})}{b}$$

Di mana:

b = slope kurva kalibrasi

s($\frac{y}{x}$) = simpangan baku blanko (Harmita, 2004)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eluen Optimum

Eluen merupakan salah satu komponen penting dalam pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis. Pemilihan eluen harus mendasarkan pada sifat analit yang dianalisis dan sifat dari fasa diam yang digunakan. Fase diam Plat Silika Gel F₂₅₄ bersifat polar, sehingga penggunaan fase gerak (eluen) yang bersifat polar atau semi polar dapat memperlambat laju eluen dan memungkinkan terjadinya partisi analit diantara kedua fasa. Senyawa yang bersifat polar lebih teradsorb pada fase diam dan berinteraksi dengan gaya dipol-dipol dan ikatan hidrogen, sedangkan senyawa yang bersifat non

polar akan lebih menyukai fase gerak dan berinteraksi dengan gaya london. Interaksi antara eluen, fasa diam (silika gel) dan analit dapat membentuk hubungan terner dan mempengaruhi laju analit. Hubungan ini relatif spesifik (pada kondisi tertentu) sehingga bisa digunakan sebagai analisis kualitatif suatu senyawa hasil analisis. Pada penelitian ini menggunakan campuran pelarut heksana : etil asetat yang divariasikan perbandingan konsentrasinya, dengan komposisi etil asetat tetap dan mengubah komposisi n-heksana, dengan perbandingan komposisi 8 : 1; 10 : 1; 12 : 1; 14 : 1; 16 : 1; 18 : 1; 20 : 1; dan 22 : 1. Nilai Rf yang dihasilkan dari hasil perhitungan didapatkan eluen dengan perbandingan n-heksana:etil asetat (8:1) sebesar

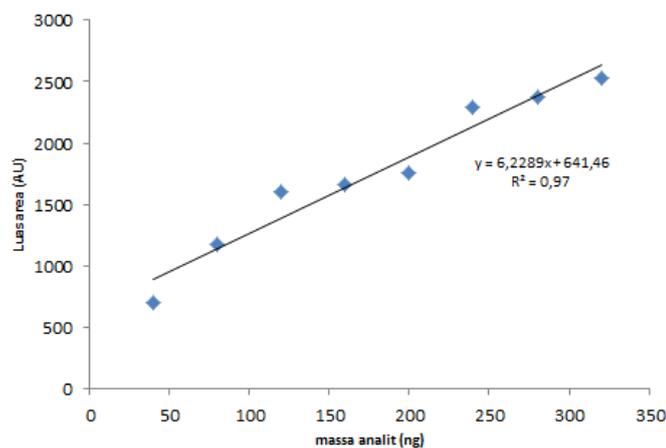
0,298±0,0035. Secara lengkap, data disajikan dalam Tabel 1.

Validasi metode

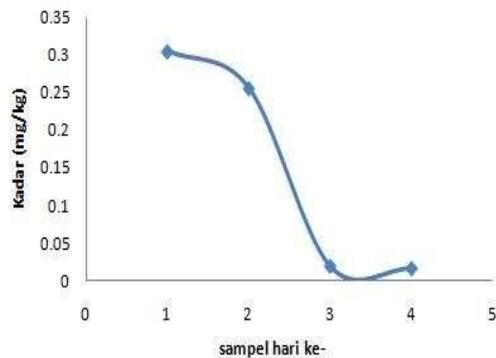
Nilai koefisien regresi diperoleh dengan menghubungkan massa analit dengan luas area hasil pengukuran pada densitometer. Nilai ini menunjukkan kemampuan suatu metode untuk dapat menghasilkan suatu hasil pengujian yang proporsional dengan konsentrasi analit pada rentang tertentu. Linieritas (R^2) yang didapatkan sebesar 0,97 (Gambar 1). Nilai ini masih lebih kecil dari nilai yang disyaratkan oleh ICH ($\geq 0,99970$) dan AOAC ($\geq 0,998$). Namun demikian, nilai ini masih berada pada rentang yang diijinkan oleh SNI, yaitu nilai $R^2 \geq 0,97$.

Tabel 1: Komposisi eluen dan nilai Rf diazinon standart

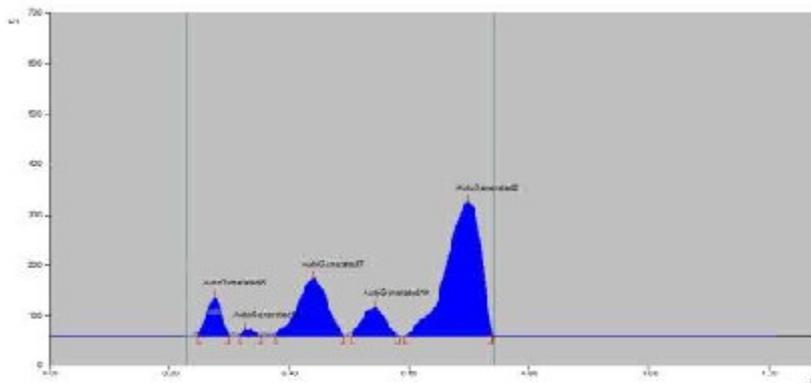
No	Komposisi Eluen (n-Heksana: etil asetat)	Rf
1	8:1	0,078±0,0035
2	10:1	0,753±0,0120
3	12:1	0,702±0,0035
4	14:1	0,693±0,0088
5	16:1	0,641±0,0060
6	18:1	0,298±0,0035
7	20:1	0,165±0,0115
8	22:1	0,410±0,0156



Gambar 1 Kurva kalibrasi diazinon



Gambar 2 Pengaruh pemanenan terhadap diazinon



Gambar 3 Densitogram ekstrak sawi hari ke-7 setelah penyemprotan

Presisi bisa ditentukan menggunakan dua cara yaitu *repeatability* dan *reproducibility*. *Repeatability* ditentukan dengan mengukur sampel pada periode tertentu, dengan kondisi yang persis sama. Nilai *repeatability* ditentukan dengan menghitung nilai simpangan baku relatif sxx(SBR). Dari 6 kali ulangan, didapatkan nilai simpangan baku relatif 0,13 (13%). Batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ) keduanya menunjukkan nilai 2,21 ppm (88,44 ng) dan 6,70 ppm (268,03 ng) berturut-turut. Nilai ini menunjukkan kemampuan metode KLT-densitometri untuk menganalisis diazinon sampai pada konsentrasi sangat kecil.

Pengukuran kedekatan hasil analisis dengan nilai yang sebenarnya dicari menggunakan persen perolehan kembali atau *recovery*. *Recovery* dilakukan dengan menambahkan standart diazinon kedalam sampel yang telah diketahui konsentrasinya. Dari penambahan diazinon pada sampel didapatkan hasil perolehan kembali sebesar 100,25%, 120% dan 88,33%. Persen perolehan kembali ini mengindikasikan akurat tidaknya suatu metode, dimana rentang yang dapat diterima menurut Ermer and Miller adalah antara 80%-120%, sedangkan menurut tavernier, et.al rentang yang daat diterima adalah antara 90%-107%. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi perolehan kembali adalah metode, konsentrasi analit dalam sampel serta kompleks tidaknya suatu metode analisis. Dari nilai yang dihasilkan, ketiganya memenuhi rentang yang disyaratkan Elmer dan Miller.

Pengaruh jarak waktu pemanenan dengan waktu penyemprotan terhadap kadar residu diazinon

Diazinon merupakan salah satu insektisida turunan organophosphat yang relatif tidak persisten di alam. Diazinon akan mengalami penguaraian menjadi bentuk turunannya atau bentuk lain yang berbeda. Waktu paruh diazinon yang relatif lama (8-35 hari), memungkinkan masih adanya residu diazinon dalam sayuran sawi hijau. Hasil pemisahan menggunakan KLT-densitometri menunjukkan kadar diazinon dalam sampel sawi hijau pada pemanenan hari ke 1, 3, 5 dan 7 setelah penyemprotan diazinon terakhir mengalami penurunan yang cukup signifikan. Secara berturut-turut masing-masing sebesar 0,305 mg/kg, 0,256 mg/kg, 0,019 mg/kg dan 0,017 mg/kg.

Penurunan kadar diazinon secara terus-menerus disebabkan oleh degradasi diazinon menjadi senyawa lain dan turunannya yang tidak dapat terdeteksi karena berada pada panjang gelombang yang berbeda dengan diazinon. Hubungan jarak waktu penyemprotan terakhir dengan waktu panen terhadap kadar diazinon dalam sampel hari ke-1 hingga sampel hari ke-4 terlihat pada Gambar 2.

Hasil densitogram ekstrak sawi hijau menunjukkan banyak senyawa lain yang terekstrak dan terdeteksi pada pemisahan menggunakan KLT dan pemindaian dengan densitometer pada 247 nm. Salah satunya seperti densitogram ekstrak sawi pada pemanenan hari ke-7 setelah penyemprotan pada gambar 3. Puncak 1 merupakan spot dari diazinon (dilihat dari nilai Rf yang dihasilkan), sedangkan

puncak lainnya diduga merupakan turunan diazinon atau senyawa lain dalam sawi hijau.

KESIMPULAN

Kromatografi Lapis tipis densitometri merupakan salah satu metode yang cukup feasible digunakan dalam menganalisis residu diazinon dalam sampel sawi hijau, beberapa parameter validasi menunjukkan nilai yang bisa diterima, namun ada parameter yang masih perlu dioptimasi lebih lanjut. Secara umum, kadar residu pestisida diazinon menunjukkan penurunan dengan penambahan rentang waktu penyemprotan dengan pemanenan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Qare, A.W., Abu-Donia, M.B., 2001, Determination of diazinone, chlorpyrifos, and their metabolites in rat plasma and urine by HPLC, *Journal of Chromatographic Science*, Vol 39: may 2001
- Afriyanto. 2008. "Kajian Keracunan Pestisida pada Petani Penyemprot Cabe di Desa Candi, Kecamatan Bandungan, Kabupaten Semarang". Tidak Diterbitkan. Tesis. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Azis, T. 2012. "Desain dan Karakterisasi Biosensor Berbasis Immobilisasi Enzim untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon". *Paradigma*. Vol. 16 (1): 57-66.
- Garcia-Repetto, R., Gimenez, M.P., Repetto, M., 2001, New Method For Determination Of 10 Pesticides In Human Blood, *J. AOAC Int*, mar-apr; 84(2):342-9
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 1(3): 117-135.
- Kabir KH, Rahman MA, Ahmed MS, Prodhani MDH, & Akon MW. 2008. "Determination of Residue of Diazinone and Carbosulfan in Brinjal and Quinaphos in Yard Long Bean Under Supervised Field Trial". *Bangladesh J. Agril. Res.* 33(3) : 503-513.
- Kamanyire, R., Karalliedde, L., 2004, Organophosphate toxicity and occupational exposure, *occupational medicine*, V. 54, p. 69-75
- Mallet, V.N., Duguoy, M., Bernier, M., 1990, An Evaluation of High Performance Liquid Chromatography-UV for the multi-residue analysis of organophosphorous pesticides in environmental water, *Intern. J. environmental analytical chemistry* 39: 271-279
- Olsson, A.O., Ngunyen, J.V., Sadowski, M.A., Bark, D.B., 2003, A Liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for quantification of specific organophosphorous pesticide biomarkers in human urine, *anal bioanal chem*, 376(6): 808-15 Epub 2003 Jun
- Permatasari, E.D., 2007, Bioindikator pencemaran insektisida organofosfat pada tanah pertanian, Tugas akhir, Bandung: FTSL Institut Teknologi Bandung
- Rista, M. E. 2014. "Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri untuk Analisis Residu Insektisida Diazinon dalam Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum Mill.*)". Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Wonorahardjo, S. 2013. *Metode- Metode Pemisahan Kimia*. Jakarta : Akademia Permata.

Sebaran Bahan dan dating C14 Lukisan Dinding Gua Situs Batu Batulis, Kotabaru

Susilo, T. B¹., Sugiyanto², Saputro, O. K¹., Soesanto, O³.,

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

²Balai Arkeologi Banjarmasin

³Jurusan Matematika FMIPA Universitas Lambung Mangkurat,

*Email: tbi.susilo@yahoo.co.id

ABSTRAK

Gua prasejarah, tempat dimana tersimpan tinggalan arkeologis sebagai salah satu sumber informasi kebudayaan manusia, Di sini telah dilakukan karakterisasi bahan lukisan gua prasejarah yang berwarna hitam dari situs Batu Batulis, Kotabaru dengan XRF dan FTIR yang dielaborasi dengan metode dating C¹⁴. Data XRF dan FTIR diolah dengan metode *neural network* menunjukkan bahwa bahan lukisan gua memiliki hubungan yang jauh dengan bahan lukisan gua dari Mesir dan USA dan satu *cluster* dengan bahan sekitar gua seperti arang (carbon), Penanggalan dengan menunjukkan umur 1.096 sebelum Masehi.

Kata Kunci: XRF, FTIR, metode C¹⁴ dan metode *neural network*

PENDAHULUAN

Sejarawan Seeley menyatakan “om wijs te worden van te voren” kita belajar prasejarah-sejarah supaya menjadi bijak terlebih dahulu [https://en.wikipedia.org/wiki/John_Robert_Seeley], termasuk kajian lukisan dinding gua prasejarah situs Batu Batulis (Gambar 1) sebagai salah satu bagian penguatan prasejarah-sejarah Indonesia. Informasi yang ditawarkan menyumbang pada ilmu prasejarah, sejarah dan etnogenesis yang krusial bagi eksplorasi identitas suatu etnik. Indonesia yang terbagi dua kelompok etnik yaitu Austronesia yang berambut lurus dan berwarna kulit kuning dan sawo matang, dan Melanisia berambut ikal dan berkulit hitam. Pada era prasejarah, kedua kelompok hidup berdampingan (coexistence) di gua. Dari gua, peradaban manusia mulai berkembang seperti agriculture (ubi, talas, keladi, pisang), berternak (ayam, sapi, babi dan kerbau) dan berlayar. Dari gua pula, awal manusia mengenal keberagaman (bukan agama) berupa mengabadikan (selfi) kehadiran mereka di muka bumi dengan melukiskan sesuatu yang membuat batin jadi tentram dan nyaman, di antaranya lukisan warna hitam di situs Bukit Bangkai, Mantewe, Batulicin. Di sini, kepeloporan analisis spektroskopi dan kronologi pada lukisan dinding gua situs Batu Batulis telah dilakukan. Kalimantan merupakan locus yang krusial dalam perubahan era prasejarah ke sejarah di Indonesia.

Manfaat praktis yang diperoleh dengan analisis lukisan gua adalah eksplorasi potensi ekowisata dari situs tersebut. Biasanya, lokasi gua berada di pegunungan kapur (karst) yang unik, seperti situs Batu Batulis. Sebagai contoh, dalam seminar Internasional “Natural and Cultural Heritage of Sangkulirang area: A First Step Towards a World Heritage” di Kalimantan Timur tanggal, 23-27 September 2013.

Perwakilan UNESCO Indonesia merekomendasikan bahwa kawasan Sangkulirang

(Kalimantan bagian Timur) memiliki potensi sebagai cagar alam dan budaya dunia. Dasar penilaian UNESCO adalah nilai luar biasa atau outstanding universal value (OUV) terhadap temuan lukisan yang unik (umur 10.000 BP) di gua Tewet (Chazine, 2005).

Rice (1987) memberi ulasan umum, bahwa terdapat aspek kimia yang dapat saling hubung antara bahan kimia lukisan gua dan bahan dasarnya. Beberapa peneliti Filcoff et al., (2007) dan Darchuk et al., (2011), mengaplikasikan Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) dan X-ray fluorescence (XRF) dalam analisis lukisan gua, berturut-turut di situs Missouri (USA) dan New Cave (Mesir).

Aplikasi spektroskopi dan 14C dating pada lukisan dinding gua berkontribusi pada penentuan karakteristik bahan lukisan gua dan kronologi pembuatan lukisan. Informasi ini bagian dari komponen untuk menyusun model ekowisata situs Bukit Bangkai (Satrianoor, 2015). Dalam masa mendatang, locus temuan situs ini, menjadi tempat wisata yang bernilai ilmiah, seperti situs Sangiran yang terkenal “rumah bagi Pithecanthropus” atau Homo erectus. Penelitian merupakan bagian rintisan pengembangan objek dan tujuan ekowisata di desa Batu Batulis, Batulicin, Kalimantan Selatan.

METODE PENELITIAN

Aplikasi XRF dan FTIR, metode ini menguntungkan karena non destruktif. XRF merk JOEL element analyser tipe JSX-3211 Dinas Energi dan Pertambangan, Provinsi Kalimantan Selatan dan FTIR merk 8021 Shimadzu dari UGM digunakan penelitian ini. Untuk penentuan umur dilakukan di Pusat Aplikasi dan Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Teknologi Atom Nasional (PATIR-BATAN) di Jakarta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada table 1., terdapat data primer hasil penelitian dan data sekunder sebagai pembanding dari Darchuk et al., (2011) dan Filcoft et al., (2007). Analisis

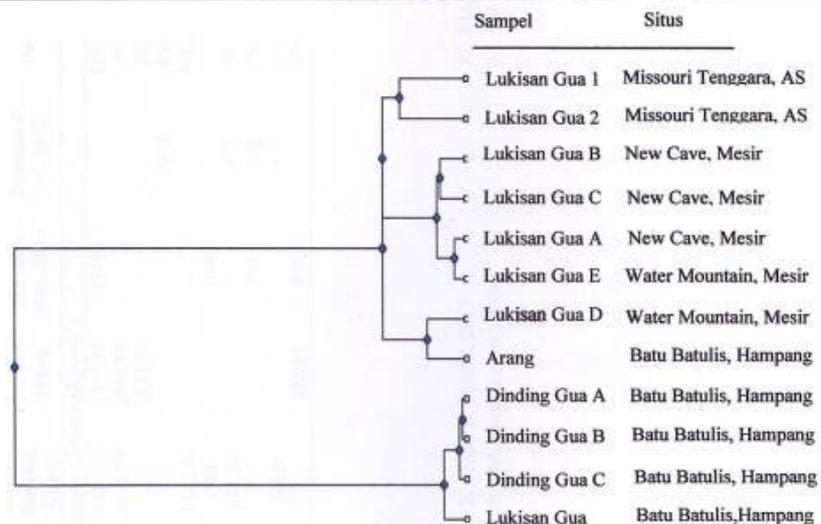
pengelompokan data dilakukan dengan metode neural network (Soesanto, 2010) untuk mengetahui analisis kedekatan komposisi antara situs Batu Batulis dan situs lainnya (Mesir dan USA), seperti gambar 1.



Gambar1. Lukisan dinding gua dan gua di situs Batu Batulis

Tabel 1. Data XRF lukisan dinding gua

No.	Sampel	Situs	Parameter (%)					Data
			Ca	K	Si	Al	Fe	
1	Lukisan Gua	Batu Batulis, Kotabaru	37,391	0,063	0,573	0,107	0,231	Primer
2	Dinding Gua A		39,442	0,047	0,074	0,032	0,012	
3	Dinding Gua B		39,183	0,048	0,251	0,037	0,016	
4	Dinding Gua C		39,129	0,048	0,385	0,436	0,062	
5	Arang		2,400	1,098	8,614	0,489	1,834	
6	Lukisan Gua A	New Cave, Mesir	0,033	0,037	28,1	3,04	1,45	Sekunder
7	Lukisan Gua B		0,068	0,162	33,8	2,89	3,17	
8	Lukisan Gua C		0,046	0,079	31	2,07	3,48	
9	Lukisan Gua D	Water Mountain, Mesir	0,127	0,127	18,5	2,73	0,51	
10	Lukisan Gua E	(Darchuk et al., 2011)	0,196	0,739	29	2,57	0,89	
11	Lukisan Gua 1	Missouri Tenggara, AS	2,285	2,656	22,866	12,18	8,573	
12	Lukisan Gua 2	Filcoft et al., 2007)	0,135	4,133	28,865	10,86	5,138	



Gambar 2. Dendrogram data XRF artefak lukisan gua situs Batu Batulis.

Tabel 2. Hasil analisis FTIR

No.	Sampel Lukisan Gua	Sampel Dinding Gua A	Sampel Dinding Gua B	Sampel Dinding Gua C	Sampel Arang	Darchuk <i>et al.</i> , 2011	Bonneau <i>et al.</i> , 2012	Referensi*	Keterangan
Bilangan Gelombang (cm⁻¹)									
1.	3425,58	3417,86	3425,58	3425,58	3417,86	3140		3500-3000 (1)	Gugus OH
2.	2931,80	2931,80	2931,80	2931,80	2931,80			2924,09 (6)	C-H alifatik
3.	2337,72	2337,72			2337,72			2337,72 (2)	Gugus C≡N
4.	1620,21						1618	1654-1620 (3)	C=O pada kalsium oksalat
5.	1427,32	1427,32	1427,32	1427,32				1430-1425 (4)	C=O pada kalsium karbonat
6.				1165		1166			Si-O pada kuarsa
7.	871,82	871,82	871,82	871,82			873	873-872 (1)	C=O pada kalsium karbonat
8.	794,67					798	796	797-794 (4)	Si-O pada kuarsa
9.		709,8	709,8	709,8			711	712-709 (4)	C=O pada kalsium karbonat
10.					470,63	470		475-470 (5)	Fe-O pada hematit

Referensi * :

1. Tomasini <i>et al.</i> , 2012	3. Egel & Simon, 2013	5. Marshall <i>et al.</i> , 2005
2. Sumahradewi, 2011	4. Mortimore <i>et al.</i> , 2004	6. Nurmasari <i>et al.</i> , 2014

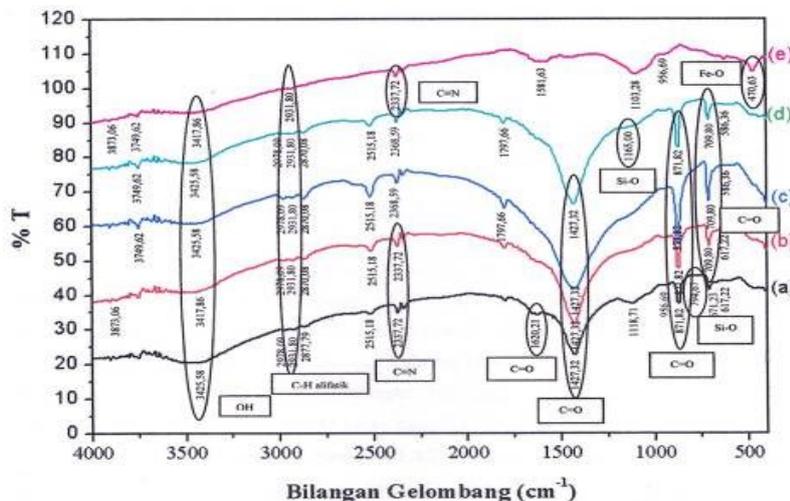
Hasilnya berupa dendrogram pada Gambar 1., yang menyatakan bahwa bahan lukisan gua memiliki kedekatan komposisi dengan sample dinding gua (A, B, dan C) yaitu dalam intra cluster, sedangkan perbandingan dengan bahan sisa arang berada di luar intra cluster. Untuk situs New Cave (Mesir) dan Missouri (USA) dibandingkan dengan situs Batu Batulis berada jauh atau inter cluster.

Pada table 2 dan gambar 3., terdapat hasil analisis FTIR yang merupakan ringkasan data pembandingan dan situs Batu Batulis. Pada puncak spectra 3425,58 cm-1 untuk sampel dinding gua B dan C, dan bilangan gelombang 3417,86cm-1 pada A dan sisa arang menunjukkan adanya gugus OH (hidroksil) yang terkonfirmasi dalam 3500-3000 cm-1 (Darchuk *et al.*, 2011; Tomasini *et al.*, 2012). Pada spectra 2931,80 cm-1 terdapat dinding gua A, B, C dan arang menunjukkan adanya gugus C-H alifatik (Nurmasari *et al.*, 2014). Sampel dinding gua A dan arang, terdapat puncak spectra pada bilangan gelombang 2337,72 yang menunjukkan adanya gugus nitril C≡N (Sumahradewi, 2011).

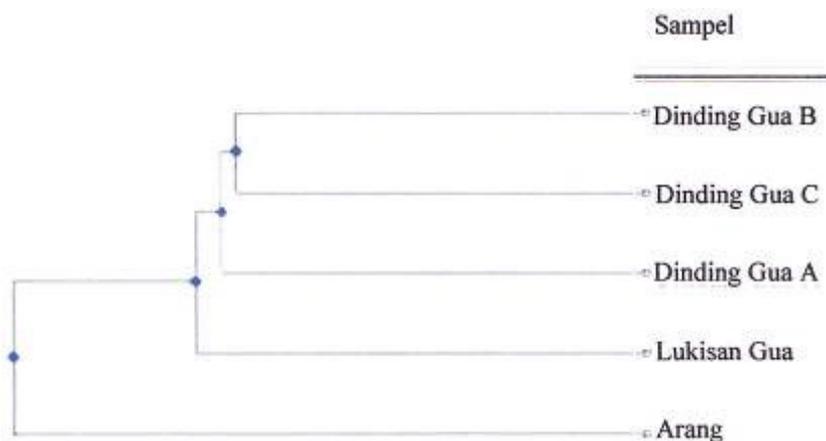
Pada puncak spectra 1620,21 cm⁻¹ pada sampel lukisan gua dan 1618 cm⁻¹ (Bonneau *et al.*, 2012) adalah merupakan gugus karbonil C=O pada kalsium

oksalat (CaC₂O₄), terkonfirmasi dengan data referensi 1654-1620 cm-1 (Egel dan Simon, 2013). Pada 1427,32cm⁻¹ dinding gua A, B dan C berada dalam rentang 1430-1425 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya karbonil pada kalsium karbonat (Mortimore *et al.*, 2004; Rosemerry *et al.*, 2009). Bilangan gelombang 1166 cm⁻¹ pada dinding gua C mendekati nilainya dengan 1666 cm⁻¹ sebagai gugus Si-O pada kuarsa (SiO₂) (Darchuk *et al.*, 2011). Untuk bilangan gelombang 871,82 cm⁻¹ pada lukisan gua, dinding gua A, B dan C mendekati 873 cm⁻¹ yang terindikasi karbonil C=O pada CaCO₃ (Bonneau *et al.*, 2012; Tomasini *et al.*, 2012; Mortimore *et al.*, 2004).

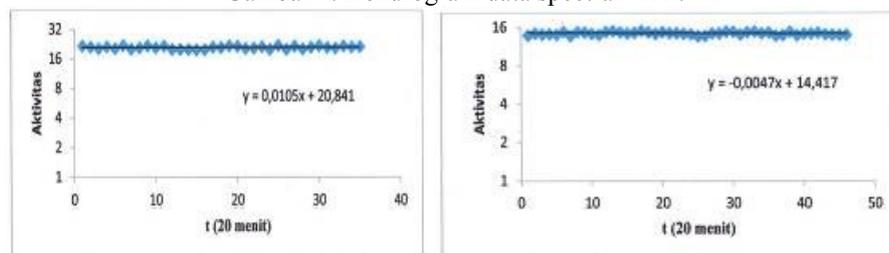
Pada sampel lukisan gua 794,67 cm⁻¹ mendekati 796 cm⁻¹ menunjukkan gugus Si-O pada kuarsa (Darchuk *et al.*, 2011, Bonneau *et al.*, 2012; Tomasini *et al.*, 2012; Mortimore *et al.*, 2004). Bilangan gelombang 709,8 cm⁻¹ pada dinding gua A, B dan C mendekati bilangan gelombang 711 cm⁻¹ dan 712-709 cm⁻¹ pada referensi menunjukkan gugus karbonil (C=O) pada CaCO₃ (Bonneau *et al.*, 2012; Mortimore *et al.*, 2004). Bilangan gelombang 470,63 cm⁻¹ pada arang menunjukkan adanya gugus Fe-O pada hematite (Fe₂O₃) (Darchuk *et al.*, 2011, Marshall *et al.*, 2005; Mortimore *et al.*, 2004).



Gambar 3. Spektra FTIR; (a) sampel lukisan gua; (b) sampel dinding gua A; (c.) sampel dinding gua B, (d) sampel dinding gua C dan (e) sampel arang.



Gambar 4. Dendrogram data spectra FTIR.



Gambar 5. Pencacahan ^{14}C , pada asam oksalat standart (a) dan sampel dinding gua (b).

Analisis perbandingan spectra yang dilakukan dengan metode *neural network* untuk mengetahui jarak kedekatan komposisi lukisan gua situs Batu Batulis dengan dinding gua A, B dan C serta arang dapat dilihat pada gambar 4. Tampak komposisi lukisan gua memiliki kedekatan dengan bahan dinding gua A dibandingkann dengan sampel lainnya atau *intra cluster* dan terhadap komposisi arang adalah *inter cluster*.

Dating ^{14}C merupakan metode untuk menentukan kronologi atau umur artefak, yang berprinsip bahwa makhluk hidup purba yang telah mati diasumsikan memiliki ^{14}C dari sumber makanan adalah berkesetimbangan dengan komposisi radioisotop waktu itu. Peluruhan terjadi sejak makluk hidup mati dengan memancarkan sinar β . Gambar 4a, menunjukkan bahwa aktivitas standart (A_0) sebesar 20,84 cpm (*count per minute*) atau aktivitas mula-mula. Untuk Gambar 4b, merupakan aktivitas pada t (A_t) sebesar 14,417 cpm. Umur dihitung dengan persamaan sederhana tanpa koreksi ^{13}C , yaitu $t = 8267 \ln [A_0]/[A_t]$ (Libby, 1959), sebesar 3.046 BP (before present, 1950) atau sekitar 1.096 tahun sebelum masehi.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis kedekatan komposisi berbagai sampel, sebaran komposisi bahan lukisan gua terindikasi berasal dari dari daerah sekitar lokasi situs Batu Batulis. Lukisan dinding gua diperkirakan

maksimal ada sejak 1.096 sebelum masehi (SM) setelah terbentuk dinding gua.

DAFTAR PUSTAKA

- Chazine, J. M., (2005), Rock Art, Burial and Habitations Caves in East Kalimantan, *Asian Perspective*, 44 (1).
 Bonneau, A., Pearce, D. G., and Pollard, A. M., (2012), A Multi-Technique Characterization and Provenance Study of The Pigment Used in San Rock Art, South Africa, *Journal of Archaeological Science*, 39: 287-294.
 Darchuk, L., Rotondo, G. G., Swaenen, M., Worobiec, A., Tsybrii., Makarovska, Y., Grieken, V. R. (2011). Composition of prehistoric rock-painting pigments from Egypt (Gilf Kébir area). *Journal Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 34– 38. Elsevier.
 Egel, E., and Simon, (2013), Investigation of the Painting Materials in Zhongshan Grottoes (Shaanxi, China), *Heritage Science*, 1:1-12
 Filcoff, P. S. R., Robertson, D. J., Glascock, D. M., Descantes, Ch. (2007). Trace element characterization of ochre from geological sources. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Vol. 272, No.1. Akadémiai Kiadó, Budapest.
 Libby, W. F., (1959), *Radocarbon dating*, 2nd Univ. of Chicago Press, Chicago.

- Ma, Q., A. Yan, Z. Hu, Z. Li, & B. Fan. (2000). Principal Component Analysis and Artificial Neural Networks Applied to the Classification of Chinese Pottery of Neolithic Age. *Analytica Chimica Acta*. 406: 247-256.
- Marshall, L. J. R., Williams, J. R., Almond, M. J., Atkinson, S. D. M., Cook, S. R., Matthews, W., and Mortimore, J. L., (2005), Analysis of Ochres from Clearwell Caves: The Role of Particle Size in Determining Colour, *Spectrochimica Acta Part A*: 61: 233-241.
- Mortimore, J. L., Marshall L. J. R., Almond, M. J., Hollins, P., dan Matthews, W., (2004), Analysis of Red and Yellow Ochre Samples From Clearwell Caves and Catalhoyuk by Vibrational Spectroscopy and Other Techniques, *Spechtrochimica Acta Part A*. 60:1179-1188
- Nurmasari, R., Astuti, M. D., Umaningrum, D., Khusnaria, D. A., (2014), *Kajian Adsorpsi Rhodamin B pada Humin*, Prosiding Seminar Nasional Kimia, ISBN:978-602-0951-00-3
- Palanivel, R., and Kumar, U. R., (2009), Thermal and spectroscopic analysis of ancient potteries, *Rom. Journ. Phys.* Vol. 56, nos. 1-, p. 195-208.
- Rice, P. M., (1987), *Pottery Analysis*, University of Chicago Press, London
- Rosemerry. A. G., David, B., Kershaw, P., and Fredericks, P. M., (2009), Prehistoric Hand Stencils at Fern Cave, North Queensland (Australia): Environmental and Chronological Implication of Raman Spectroscopy and FT-IR Imaging Result. *Journal of Archaeological Science*. 36: 2617-2624.
- Satrianoor, M. R. A., (2015), Analisis Spektroskopi Lukisan Gua Dari Situs Liang Bangkai, Kecamatan Mantewe, Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan, *Skripsi*, MIPA Unlam
- Soesanto, O. (2010). *Peningkatan Performansi Hybrid-Radial Basis Probabilistic Neural Network dengan Algoritma PCA-RBPNN-ROLS*. Tesis. ITS 2010. Surabaya.
- Sugiyanto, B., Jatmiko dan Yuka Nurtanti, (2013), Survei dan ekskavasi situs Liang Bangkai Desa Dukuhrejo, Kecamatan Mentewe, Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan, *Laporan Penelitian Arkeologi, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan*, Balai Arkeologi Banjarmasin.
- Sumahiradewi, L .G., (2011), Isolasi dan Uji Aktivitas Antifungsi Senyawa Golongan Steroid pada Daun Beringin (*Ficus Benjamina L.*), *Gene Swara*, 5: 17-21
- Tomasini, E., Siracusano, G., and Maire, M. S., (2012), Spectroscopy, Morphological and Chemical Characterization of Historic Pigments Based on Carbon Paths for the Identification of an Artistic Pigment, *Microchemical Journal*, 102:28-37.
- https://en.wikipedia.org/wiki/John_Robert_Seeley akses 22 Agustus 2015.

Hubungan Antara Konduktivitas, TDS (Total Dissolved Solid) DAN TSS (Total Suspended Solid) Dengan Kadar Fe^{2+} Dan Fe Total Pada Air Sumur Gali Di Daerah Summersari, Puger Dan Kencong Kabupaten Jember

Fendra Nicola, Mukh Mintadi, Siswoyo*
Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember
*E-mail: siswoyo@unej.ac.id

ABSTRAK

Sebagian besar penduduk di Kabupaten Jember menggunakan air sumur gali untuk keperluan sehari-hari. Salah satu masalah yang sering dijumpai adalah besi dalam air sumur gali yang menyebabkan karat dan noda kecoklatan pada pakaian atau perabot rumah tangga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan Fe^{2+} dan Fe Total dengan konduktivitas, TDS dan TSS dalam air sumur gali. Air sumur gali dipilih di daerah pH air yang netral (Summersari), basa (Puger) dan asam (Kencong). Penentuan Fe^{2+} dan Fe Total menggunakan spektrofotometer UV-Vis, penentuan konduktivitas dan TDS menggunakan konduktometer dan penentuan TSS menggunakan metode penyaringan dan penimbangan residu. Hasil dari penelitian ini diperoleh kadar Fe^{2+} di daerah Summersari, Puger dan Kencong berturut-turut adalah 0,358 ppm, 0,377 ppm dan 0,493 ppm, kadar Fe Total adalah 0,615 ppm, 0,514 ppm dan 0,701 ppm. Nilai Konduktivitas di daerah Summersari, Puger dan Kencong berturut-turut adalah 288,50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 529,20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dan 561,40 $\mu\text{S}/\text{cm}$, untuk nilai TDS adalah 184,90 mg/L, 371,30 mg/L dan 391,30 mg/L, sedangkan nilai TSS adalah 42,50 mg/L, 59,39 mg/L dan 66,50 mg/L. Dapat disimpulkan bahwa secara umum semakin besar kadar Fe^{2+} maka semakin besar nilai konduktivitas, TDS dan TSS, sedangkan kadar Fe total sangat kecil pengaruhnya terhadap nilai konduktivitas, TDS dan TSS.

Kata Kunci: besi, konduktivitas, TDS, TSS, air sumur gali

PENDAHULUAN

Air tanah merupakan air yang berada dibawah permukaan tanah. Karakteristik utama yang membedakan air tanah dan air permukaan adalah pergerakan air tanah yang sangat lambat dan waktu tinggal (*residence time*) yang sangat lama, dapat mencapai puluhan bahkan ratusan tahun [1].

Besi adalah salah satu dari unsur penting yang ditemukan dalam air permukaan dan air tanah. Air yang mengandung besi yang terlalu tinggi sangat tidak diinginkan untuk keperluan rumah tangga, karena dapat menyebabkan bekas karat pada pakaian, porselin dan alat-alat lainnya serta menimbulkan rasa yang tidak enak pada konsentrasi diatas 0,31mg/L [2].

Senyawa besi dalam jumlah kecil di dalam tubuh manusia berfungsi sebagai pembentuk sel-sel darah merah, dimana tubuh memerlukan 7-35 mg/hari yang sebagian diperoleh dari air. Tetapi zat Fe yang melebihi dosis yang diperlukan oleh tubuh dapat menimbulkan masalah kesehatan. Hal ini dikarenakan tubuh manusia tidak dapat mengsekresi Fe, sehingga bagi mereka yang sering mendapat transfusi darah warna kulitnya menjadi hitam karena akumulasi Fe. Air minum yang mengandung besi cenderung menimbulkan rasa mual apabila dikonsumsi. Selain itu dalam dosis besar dapat merusak dinding usus. Kematian sering kali disebabkan oleh rusaknya dinding usus ini. Kadar Fe yang lebih dari 1 mg/l akan menyebabkan terjadinya iritasi pada

mata dan kulit. Apabila kelarutan besi dalam air melebihi 10 mg/l akan menyebabkan air berbau seperti telur busuk.

Besi (II) sebagai ion ferro yang dapat larut, merupakan jenis besi yang lebih umum ditemukan dalam air tanah daripada Fe (III). Air tanah tidak berhubungan dengan oksigen dari atmosfer, sehingga menghasilkan keadaan reduksi (Fe^{2+}) dalam air tanah. Oleh karena itu, besi dengan bilangan oksidasi rendah, yaitu Fe (II) umum ditemukan dalam tanah dibandingkan Fe (III) [2].

Konduktivitas (daya hantar listrik/DHL) adalah gambaran numerik dari kemampuan air untuk meneruskan aliran listrik. Oleh karena itu, semakin banyak garam-garam terlarut yang terionisasi, semakin tinggi pula nilai DHL [1]. Konduktivitas dinyatakan dengan satuan $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ atau $\mu\text{Siemens}/\text{cm}$. Nilai DHL berhubungan erat dengan nilai padatan terlarut total (TDS) [3].

TSS biasanya disebabkan oleh bahan anorganik yang berupa ion-ion yang biasa ditemukan di perairan. TSS terdiri atas lumpur, pasir halus dan jasad-jasad renik, yang terutama disebabkan oleh kikisan tanah atau erosi tanah yang terbawa ke badan air.

Berdasarkan uraian tersebut diatas diduga bahwa konduktivitas, TDS dan TSS berhubungan dengan kadar mineral/unsur yang terdapat di dalam air tanah, termasuk besi pada air tanah yang berasal dari sumur gali.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Analitik Fakultas MIPA Universitas Jember dimulai bulan Juli sampai Oktober 2014. Tempat pengambilan sampel di daerah Puger, Kencong dan Sumbersari. Alat-alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, pipet mohr 1 mL, 5 mL dan 10 mL, botol semprot, ball pipet, kuvet, spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, pH meter, konduktometer, gelas kimia 200 mL, 300 mL, dan 100 mL, labu takar 50 mL, 100 mL dan 1000 mL, cawan porselen, oven, desikator, penjepit cawan, erlenmeyer, corong gelas, spatula, dan kertas saring.

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah garam $\text{Fe}(\text{NH}_4\text{OH})_2\text{SO}_4$, Hidroksilamina-HCl (Merck) 10%, Fenantrolin 0,1, Buffer asetat pH 4, Aquades, H_2SO_4 , larutan KCl (Merck) dan Air Sumur Gali.

Pengambilan Sampel Air

Sampel diambil dari 3 lokasi yang berbeda yaitu di daerah sebagai berikut :

1. Lokasi pertama di daerah Sumbersari tepatnya JL. Kaliurang dengan kode titik pengambilan sampel

yaitu S1 (JL. Kaliurang Gg. Bengkel No. 2), S2 (JL. Kaliurang RT 05, RW 07), dan S3 (JL. Kaliurang RT 05, RW 07 bersebelahan dengan S2 dengan jarak +/- 5 meter).

2. Lokasi kedua di daerah Puger disekitar tambang batu kapur dengan kode titik pengambilan sampel yaitu P1 (Desa Grenden, Kapuran Puger), P2 (Desa Grenden Kapuran RT 001, RW 003), dan P3 (Desa Grenden, Kamaran).
3. Lokasi ketiga di daerah Kencong disekitar persawahan dengan kode titik pengambilan sampel yaitu K1 (Desa Pulojatisari, RT 003, RW 036), K2 (Desa Pulojatisari, RT 003, RW 036), dan K3 (Desa Pulojatisari, RT 003, RW 036).

Analisis Data

Penentuan kadar besi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan untuk penentuan konduktivitas dan TDS menggunakan konduktometer. Penentuan TSS dengan cara penyaringan sampel kemudian keringkan dalam oven dan ditimbang berat residunya. Nilai koefisien korelasi dihitung menggunakan rumus

$$r = \frac{n\sum x_i y_i - (\sum x_i)(\sum y_i)}{\sqrt{[n\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n\sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}}$$

Tabel 4.1 Data Konduktivitas Sampel Air Sumur Gali

Sampel	Konduktivitas ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Keterangan
S1	296,7	JL. Kaliurang, Sumbersari
S2	284,0	
S3	284,7	
P1	543,0	Ds. Grenden, Kapuran, Puger
P2	617,0	
P3	427,3	
K1	689,3	Ds. Pulojatisari, Kencong
K2	549,3	
K3	445,7	

Kadar Fe^{2+} dan Fe total dapat dihitung menggunakan persamaan dari kurva kalibrasi $y = mx + c$ dimana y adalah absorbansi dan x adalah kadar Fe^{2+} dan Fe total. Hubungan antara konduktivitas, TDS, dan TSS dengan kadar Fe (II) dan Fe total dapat diketahui dengan cara dibuat grafik perbandingan antara masing masing parameter dengan Fe (II) dan Fe total. Dilakukan perhitungan koefisien korelasi antara parameter dengan kadar besi. Nilai koefisien korelasi (r) yaitu antara $-1 \leq r \leq 1$, dapat diartikan sebagai kriteria nilai r sebagai berikut:

- 0,00 – 0,199 : Korelasi sangat lemah
- 0,20 – 0,399 : Korelasi lemah
- 0,40 – 0,599 : Korelasi cukup
- 0,60 – 0,799 : Korelasi kuat
- 0,80 – 1,000 : Korelasi sangat kuat [4].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konduktivitas Air Sumur Gali

Setelah dilakukan pengukuran konduktivitas dari air sumur gali di daerah Sumbersari, Puger dan Kencong maka didapatkan hasil seperti tabel 4.1.

Dari semua sumur gali tersebut masih memenuhi syarat Kepmenkes No. 907/2002 menetapkan batas maksimum *conductivity* 125 mS/m.

TDS Air Sumur Gali

Penentuan total padatan terlarut dalam air sumur gali didapatkan hasil seperti tabel 4.2. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 416/MENKES/PER/IX/1990 Tanggal 3 September 1990, kadar maximum TDS yang diperbolehkan yaitu

1.000 mg/L. Jadi, dari semua sampel tersebut masih memenuhi batas persyaratan kualitas air bersih.

TSS Air Sumur Gali

Dari hasil pengukuran TSS pada 3 lokasi dengan 9 sumur gali didapatkan data sebagai tabel 4.3. Nilai TSS

dari semua lokasi sumur gali masih dibawah ambang batas menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor : 03 Tahun 2010 Tanggal 18 Januari 2010 yaitu 150 mg/L.

Tabel 4.2 Data TDS Sampel Air Sumur Gali

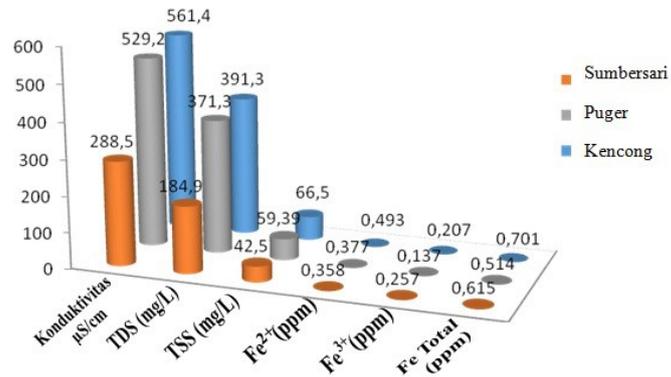
Sampel	TDS (mg/L)	Keterangan
S1	190,0	JL. Kaliurang, Sumpersari
S2	182,0	
S3	182,7	
P1	378,3	Ds. Grenden, Kapuran, Puger
P2	427,7	
P3	308,0	
K1	473,3	Ds. Pulojatisari, Kencong
K2	383,7	
K3	317,0	

Tabel 4.3 Data TSS Sampel Air Sumur Gali

Sampel	TSS (mg/L)	Keterangan
S1	41,17	JL. Kaliurang, Sumpersari
S2	27,33	
S3	59,00	
P1	74,33	Ds. Grenden, Kapuran, Puger
P2	60,67	
P3	43,17	
K1	95,17	Ds. Pulojatisari, Kencong
K2	49,17	
K3	55,17	

Tabel 4.4 Kadar Besi Dalam Sampel Air Sumur Gali

Sampel	Fe ²⁺ (ppm)	Fe ³⁺ (ppm)	Fe Total (ppm)	Keterangan
S1	0,328	0,458	0,786	JL. Kaliurang, Sumpersari
S2	0,368	0,150	0,518	
S3	0,378	0,162	0,540	
P1	0,376	0,038	0,414	Ds. Grenden, Kapuran, Puger
P2	0,378	0,116	0,494	
P3	0,378	0,256	0,634	
K1	0,620	0,282	0,902	Ds. Pulojatisari, Kencong
K2	0,464	0,262	0,726	
K3	0,396	0,078	0,474	



Gambar 4.1 Profil Masing-masing Lokasi

Profil Masing-masing Lokasi

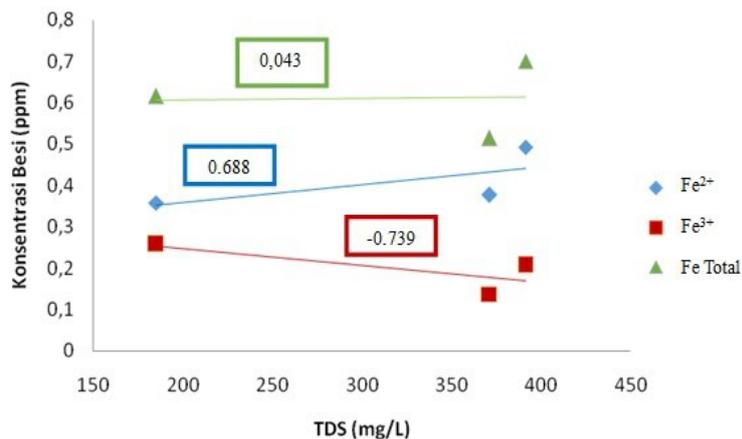
Berdasarkan data yang diperoleh dari pengukuran Konduktivitas, TDS, TSS dan kadar besi dalam air sumur gali di masing-masing lokasi maka bisa dibuat profil lokasi sebagai

Dari grafik 4.1, bisa dilihat nilai konduktivitas, TDS, TSS serta kadar besi di ketiga lokasi semakin meningkat mulai dari Sumber Sari, Puger kemudian Kencong. Peningkatan nilai konduktivitas, TDS dan TSS tersebut seiring dengan bertambahnya konsentrasi Fe²⁺. Berbeda dengan kadar Fe³⁺ yang mengalami penurunan konsentrasi dari daerah Sumber Sari ke daerah Puger kemudian naik lagi di daerah Kencong. Hal ini dikarenakan lokasi sumur di daerah Sumber Sari memiliki kedalaman kurang dari kedalaman sumur di daerah Puger, jika air sumur gali semakin mendekati permukaan maka air sumur gali akan semakin banyak

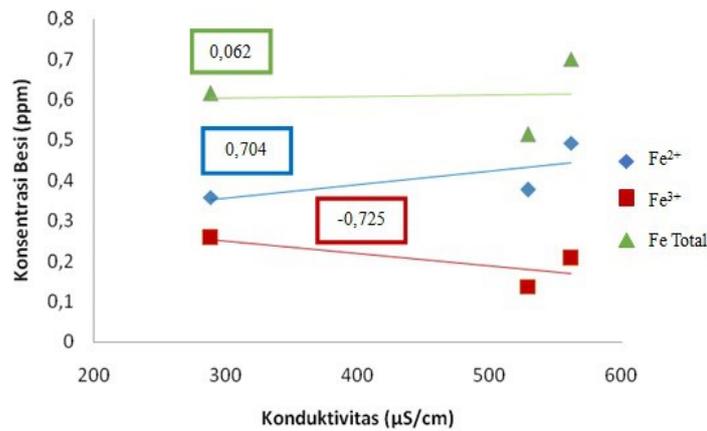
berinteraksi dengan oksigen menyebabkan Fe²⁺ teroksidasi menjadi Fe³⁺. Kemudian di daerah Kencong kedalaman sumur semakin dangkal sehingga Fe²⁺ yang teroksidasi menjadi Fe³⁺ juga semakin banyak sedangkan konsentrasi Fe Total dipengaruhi oleh kadar Fe³⁺ tersebut.

Hubungan Antara Konduktivitas, TDS, dan TSS dengan Kadar Besi Dalam Air Sumur Gali

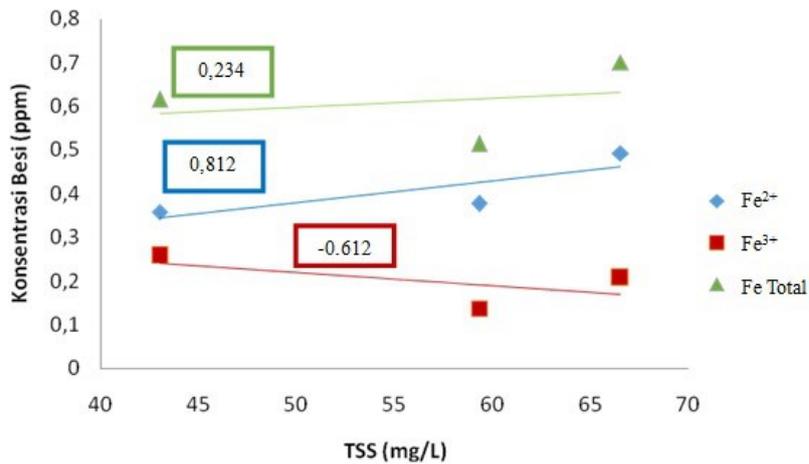
Berdasarkan hasil penentuan masing-masing parameter dan kadar besi dalam air sumur gali maka diperoleh data untuk setiap lokasi seperti tabel 4.6. Berdasarkan data tersebut kemudian dibuat grafik hubungan antara masing-masing parameter dengan kadar besi dan dihitung berapa koefisien korelasi setiap parameter dengan kadar besi menggunakan rumus koefisien korelasi.



Gambar 4.3 Hubungan Antara TDS dengan Konsentrasi Besi



Gambar 4.2 Hubungan Antara Konduktivitas dengan Konsentrasi Besi



Gambar 4.4 Hubungan Antara TSS dengan Fe Total

Tabel 4.6 Data Parameter dengan Kadar Besi

Lokasi	Konduktivitas (µS/cm)	TDS (mg/L)	TSS (mg/L)	Fe ²⁺ (ppm)	Fe ³⁺ (ppm)	Fe Total (ppm)
Sumpersari	288,50	184,90	42,50	0,358	0,257	0,615
Puger	529,20	371,30	59,39	0,377	0,137	0,514
Kencong	561,40	391,30	66,50	0,493	0,207	0,701

Pada gambar 4.2 dan 4.3 bisa dilihat hubungan antara konduktivitas dan TDS dengan Fe²⁺, Fe³⁺ dan Fe Total. Koefisien korelasi konduktivitas dengan Fe²⁺ yaitu $r = 0,704$ dan koefisien korelasi TDS dengan Fe²⁺ adalah $r = 0,688$ artinya terdapat korelasi kuat antara Konduktivitas dan TDS dengan Fe²⁺. Konduktivitas dipengaruhi oleh konsentrasi ion didalam larutan, semakin banyak ion semakin besar nilai konduktivitasnya. Dalam hal ini Fe²⁺ termasuk ion yang terdapat dalam air sumur gali jadi dengan bertambahnya konsentrasi Fe²⁺ maka akan meningkatkan nilai konduktivitasnya. Fe²⁺ juga salah satu padatan yang terlarut dalam air sehingga bisa mempengaruhi nilai TDS.

Koefisien korelasi antara konduktivitas dengan Fe Total yaitu $r = 0,062$ dan koefisien korelasi TDS dengan Fe Total adalah $r = 0,043$ berarti terdapat korelasi sangat lemah antara konduktivitas dan TDS dengan Fe Total. Korelasi yang sangat lemah ini bisa dikarenakan kadar Fe Total yang juga dipengaruhi oleh kadar Fe³⁺ dimana Fe³⁺ merupakan ion yang tidak stabil dalam air sumur gali jadi Fe Total kurang berpengaruh terhadap nilai konduktivitas dan TDS. Hal ini didukung dengan korelasi konduktivitas dan TDS dengan Fe³⁺ pada gambar 4.2 dan 4.3 yaitu hubungan yang berlawanan arah berarti semakin besar nilai konduktivitas, kadar Fe³⁺ semakin kecil. Bisa juga dikarenakan lokasi sumur mulai dari Sumpersari, Puger

dan Kencong semakin banyak mendapatkan oksigen sehingga Fe^{3+} membentuk endapan besi dan mengurangi konsentrasi Fe^{3+} .

Hubungan TSS dengan Fe^{2+} mempunyai nilai korelasi positif seperti pada gambar 4.4 yaitu $r = 0,812$ yang berarti ada korelasi kuat. Nilai TSS yang tinggi memberikan kontribusi untuk kekeruhan (turbidity) dengan membatasi penetrasi cahaya untuk fotosintesis sehingga oksigen terlarut berkurang menyebabkan dan membentuk suasana anaerob. Pada kondisi ini, FeCO_3 akan larut dan menjadikan Fe^{2+} meningkat. Nilai TSS meningkat seiring dengan bertambahnya kadar Fe^{2+} bisa dikarenakan padatan lain seperti tanah liat, logam oksida, sulfida, ganggang, bakteri dan jamur juga semakin bertambah.

Berdasarkan data yang diperoleh untuk TSS dengan dengan Fe Total $r = 0,234$ yang artinya korelasi lemah karena Fe Total termasuk dalam padatan yang terlarut jadi bisa dianggap tidak berpengaruh dengan nilai TSS. Koefisien korelasi antara TSS dengan Fe^{3+} adalah $r = -0,615$ berarti korelasinya cukup kuat dan berlawanan arah, semakin besar nilai TSS, semakin kecil konsentrasi Fe^{3+} . Hal ini dikarenakan Fe^{3+} yang terlarut dalam air membentuk endapan besi sehingga konsentrasi Fe^{3+} akan berkurang dan menyebabkan padatan yang tersuspensi semakin banyak.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas maka dapat disimpulkan bahwa hubungan Konduktivitas, TDS dan TSS dengan Fe^{2+} kuat dan positif yaitu semakin besar nilai konduktivitas, TDS dan TSS maka semakin besar pula konsentrasi Fe^{2+} karena Fe^{2+} termasuk ion yang terlarut dalam air sumur gali. Hubungan Konduktivitas, TDS dengan Fe Total sangat lemah dan positif karena konsentrasi Fe total juga dipengaruhi oleh konsentrasi Fe^{3+} dimana konsentrasi Fe^{3+} di lokasi kedua menurun namun mengalami peningkatan konsentrasi di lokasi ketiga. Hubungan TSS dengan Fe Total lemah dan positif berarti semakin besar nilai TSS, semakin besar konsentrasi Fe Total. Karena Fe Total juga dipengaruhi oleh konsentrasi Fe^{3+} .

DAFTAR PUSTAKA

- [1]Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Yogyakarta: Kanisius.
- [2]Rompas, R.M. 1998. *Kimia Lingkungan*. Bandung : Tarsito.
- [3]Tebbutt, T.H.Y. 1992. *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Mrtinus Nijhoff/Dr.W.Junk. Publ, Dordrecht, The Netherlands.
- [4]Riduwan. 2003. *Skala Pengukuran Variabel-Variabel Penelitian*. Bandung: Alfabeta.

Isolasi Silikon (Si) Dari *Fly Ash* Batubara Dengan Metode Metalotermis Menggunakan Reduktor Aluminium

Nanang Sugiarto¹⁾, Novita Andarini¹⁾, Tanti Haryati¹⁾

¹⁾Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember
Email : nanangchemist11@gmail.com

ABSTRAK

Isolasi silikon dari *fly ash* (abu terbang) hasil samping pembakaran batubara PLTU Paiton Probolinggo telah dilakukan menggunakan metode metalotermis. Metode metalotermis yaitu mereaksikan silika dan aluminium pada kondisi termal. Penentuan kondisi optimum isolasi silikon menggunakan silika p.a dilakukan dengan variasi suhu 650°C, 750°C, dan 850°C selama 3 jam. Setelah itu, alumina dipisahkan dengan cara pengasaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu optimum isolasi silikon pada silika p.a yaitu 850°C dengan massa jenis 2,195 g/cm³ dan kadar silikon sebesar 20,7161%. Hasil ini juga didukung dengan data analisis FTIR. Suhu optimum yang didapat diaplikasikan untuk mengisolasi silikon dari silika hasil ekstraksi *fly ash*. Randemen silika hasil ekstraksi yaitu 39,078 – 47,58 % dan massa jenis silikon yang didapatkan yaitu 1,793 g/cm³. Silikon hasil metalotermis silika p.a dan silika hasil ekstraksi masih berupa silikon kasar.

Kata Kunci : *fly ash*, silika, aluminium, metalotermis

PENDAHULUAN

Silikon (Si) merupakan salah satu unsur kimia yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan, salah satunya yaitu pada perangkat keras komputer dan industri mikroelektrokimia. Silikon bisa diisolasi dari bentuk oksidanya (SiO₂) yang sering disebut silika dari beberapa limbah, salah satunya yaitu limbah *fly ash* pembakaran batubara PLTU Paiton Probolinggo.

Fly ash adalah abu yang terbawa oleh aliran gas pembakaran dan dikumpulkan di *economizer air heater* dan penampung atau *precipitator hopper*, biasanya berukuran 0,074-0,005 mm (Hosenainy, 2011). *Fly ash* mengandung berbagai jenis oksida logam, terutama silikon dioksida (SiO₂), aluminium oksida (Al₂O₃) dan besi oksida (Fe₂O₃). PJB Paiton (2002) menyatakan bahwa silika (SiO₂) yang terkandung dalam *fly ash* yaitu 30,25-36,83 %.

Penelitian mengenai isolasi silikon telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Silikon dari abu sekam padi diisolasi menggunakan metode metalotermis menggunakan reduktor aluminium pada suhu 650°C dan optimum selama 180 menit (Subakti, *et al.*, 2013). Penentuan celah energi (*Energi Gap*) silikon hasil isolasi dari abu sekam padi dengan reaksi metalotermis aluminium telah dilakukan dan memberikan hasil celah energi sebesar 1,79 eV untuk tegangan 0,5 Volt dan 1,62 eV untuk tegangan 2,2 Volt (Armaina, *et al.*, 2013).

Isolasi silikon dari *fly ash* batubara belum pernah dilakukan dan belum diketahui kondisi optimum untuk mengisolasinya, sehingga penelitian mengenai pemanfaatan limbah *fly ash* batubara sebagai sumber silikon dengan penentuan suhu optimum isolasi perlu dilakukan. Isolasi silikon pada penelitian ini dilakukan

dengan metode metalotermis menggunakan reduktor aluminium (Al). Reaksi metalotermis adalah proses pereaksian secara termal silika dan bahan logam (Subhan, 2002). Metode metalotermis dipilih karena murah dan relatif sederhana, proses pereaksian juga dapat dilakukan pada temperatur yang relatif rendah yakni 650°C dibandingkan dengan metode Czochralski sekitar 1450°C (Subhan, 2002) dan penggunaan reduktor karbon (C) pada suhu 3000°C.

METODOLOGI

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah gelas beaker, labu ukur, pipet volume, pipet mohr, pipet tetes, spatula, corong kaca, corong buchner, *ball pipet*, botol semprot, cawan porselin, cawan nikel, desikator, termometer, aluminium foil, piknometer, kaca arloji, kertas saring, kertas saring *whatman* no.41, anak stirer, neraca analitik (Ohaus Analytical Plus), *furnace* (Barnstead Thermolyne 1400), oven (Mettler), pH meter (Jenway 3505), Spektrofotometer FTIR (Bruker Alpha Sample, ATR eco Ge), Spektrofotometer Serapan Atom (AAS Perkin Elmer 3110), stirer magnetik dan pemanas listrik (Lab. Companion HP-3000).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel *fly ash* (abu terbang) batubara dari PLTU Paiton Probolinggo, NaOH (merck), HCl (merck 37%), HNO₃ (merck 65%), HClO₄ (merck 60-70%), H₂SO₄ (merck 98%), HF (merck 48%), serbuk silika (merck), serbuk aluminium (merck), dan aquades.

2. Prosedur Kerja

2.1 Isolasi Silikon dari Silika p.a dengan Metode Metalotermis untuk Penentuan Suhu Optimum

Serbuk silika (SiO_2) dan aluminium (Al) dicampur dengan perbandingan massa berdasarkan stoikiometri dan ditempatkan dalam cawan porselen.



Silika sebanyak 5 gram dan 2,967 gram aluminium dicampur, kemudian dipanaskan dalam *furnance* dengan variasi suhu reaksi yaitu 650 ; 750 ; 850 selama 3 jam. Campuran yang telah dipanaskan kemudian didinginkan dan dilakukan prosedur pemisahan serta analisis silikon hasil metalotermis, sehingga akan didapatkan suhu optimum untuk isolasi silikon

2.2 Preparasi Sampel

Sebanyak 50 gram sampel *fly ash* direndam dalam air panas selama 2 jam (Retnosari, 2013).

2.3 Leaching

Sampel *fly ash* sebanyak 25 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu leher tiga dan ditambah 500 mL HCl 3%. Campuran tersebut direfluks selama 2 jam, setelah itu larutan disaring dan residu dicuci dengan aquades panas hingga netral. Residu dikeringkan di dalam oven pada suhu 100 °C (Okutani, 2009).

2.4 Ekstraksi Silika dari *Fly Ash* Batubara

Sampel *fly ash* direndam dalam larutan NaOH 3 M, kemudian dipanaskan hingga mendidih yang disertai pengadukan dengan kecepatan 150 rpm selama 120 menit. Larutan tersebut disaring dan filtratnya ditampung dalam beaker glass. Silika diendapkan dengan cara menambahkan larutan HCl 1 M ke dalam filtrat secara bertahap hingga rentang pH 6,5-7. Endapan dipisahkan dan dibilas menggunakan aquades untuk menghilangkan kelebihan asam. Silika yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 110°C selama 6 jam untuk menghilangkan air (Retnosari, 2013).

2.5 Karakterisasi Silika Hasil Ekstraksi dengan Metode Gravimetri

Silika dilarutkan dengan aquades, HNO_3 p.a, HClO_4 p.a, kemudian dipanaskan sampai keluar uap putih. Selanjutnya larutan disaring dengan kertas saring *Whatman* no.41. Kertas saring dan residu dicuci dengan air panas sebanyak 15 kali. Kemudian residu dan kertas saring dimasukkan ke dalam cawan platina, setelah itu dipanaskan dan dibakar di atas nyala gas sampai terbentuk abu kemudian dipijarkan pada *furnace* dengan suhu 1000°C selama 30 menit. Setelah itu didinginkan dalam desikator vakum 20 menit kemudian timbang (A gram). Selanjutnya residu dalam platina dilarutkan dengan sedikit air, ditambahkan 1-2 tetes H_2SO_4 dan 5 mL HF, diuapkan sampai kering di atas plat pemanas dan dipijarkan pada *furnace* dengan suhu 1000°C

selama 2 menit. Kemudian didinginkan dalam desikator vakum 20 menit dan hasilnya ditimbang (B gram) (SNI 7574 : 2010 dalam Retnosari, 2013).

$$(i) \text{SiO}_2 (g) = \frac{(A - B) \times C}{D}$$

$$(ii) \text{Kadar SiO}_2 (\%) = \frac{(i) \times 100 \%}{C}$$

dimana :

A = bobot cawan + residu (gram)

B = bobot cawan + residu setelah proses

HF (gram)

C = silika hasil ekstraksi (gram)

D = bobot sampel (0,5 gram)

2.6 Isolasi Silikon dari Silika *Fly Ash* Batubara dengan Metode Metalotermis berdasarkan Suhu Reaksi Optimum

Silika sebanyak 1,5 gram dan 0,9 gram aluminium ditempatkan dalam cawan porselen. Campuran tersebut dipanaskan dalam *furnace* pada suhu optimum selama 3 jam. Campuran yang telah dipanaskan kemudian didinginkan dan dilakukan prosedur pemisahan serta analisis silikon hasil metalotermis.

2.7 Pemisahan Campuran Silikon dan Alumina

Pemisahan campuran atau reduksi alumina untuk mendapatkan silikon dilakukan dengan metode pengasaman menggunakan larutan HCl 3 M. Larutan HCl tersebut dituangkan secara perlahan pada produk reaksi metalotermis, kemudian dipanaskan pada suhu 70 °C selama 60 menit. Prosedur tersebut diulang tiga kali. Tahap selanjutnya yaitu campuran dibilas dengan aquades panas berulang kali hingga netral, setelah itu campuran difiltrasi dan dikeringkan dalam oven 60 °C selama 60 menit. Padatan yang telah dikeringkan dibiarkan selama 12 jam dan ditimbang hingga massanya konstan (Armaina, 2013).

2.8 Analisis Silikon Hasil Metalotermis

Analisis silikon hasil metalotermis dilakukan secara kualitatif dengan FTIR dan secara kuantitatif dengan AAS. Selain itu juga dilakukan analisis massa jenis silikon kasar dengan persamaan :

$$\rho_{\text{silikon}} = \frac{p_s - p_0}{(p_a + s) - p_{as}} \times 1 \text{ g/cm}^3$$

Keterangan massa :

Po : Piknometer kosong

Ps : Piknometer dan sampel

Pa : Piknometer dan aquades

Psa : Piknometer, sampel dan aquades

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi silikon dari silika p.a dilakukan untuk menentukan kondisi optimum isolasi berdasarkan variasi suhu reaksi metalotermis yaitu 650, 750, dan

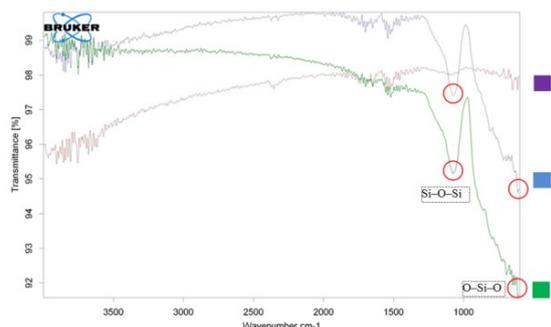
850 °C. Silikon hasil metalotermis dari variasi suhu yaitu :



Gambar 1. Silikon (Si) kasar hasil isolasi silika p.a pada suhu (a) 650 °C, (b) 750 °C, (c) 850 °C

Silikon hasil metalotermis 650 °C berwarna abu-abu mengkilap, hal ini menandakan bahwa sangat sedikit reaksi yang terjadi karena warna Al masih terlihat. Si hasil metalotermis 750 °C berwarna abu-abu, dan 850 °C berwarna abu-abu kehitaman.

Analisis FTIR digunakan untuk mengidentifikasi hilangnya gugus fungsi pada silika. Hasil analisis FTIR yaitu pada gambar 2.



Gambar 2. Spektrum FTIR Silikon hasil metalotermis (a) 650 °C (hijau) (b) 750 °C (biru), dan (c) 850 °C (ungu)

Spektrum FTIR silikon hasil metalotermis 650 °C dan 750 °C menunjukkan adanya puncak pada bilangan gelombang sekitar 500 dan 1100 cm^{-1} yang disebabkan adanya vibrasi tekuk O-Si-O dan vibrasi asimetris Si-O-Si. Hal ini menandakan bahwa masih ada SiO_2 yang belum bereaksi. Spektrum FTIR silikon hasil metalotermis 850 °C tidak menunjukkan adanya puncak gugus O-Si-O dan Si-O-Si, hal tersebut menandakan bahwa atom oksigen pada silika p.a telah direduksi sempurna oleh aluminium. Berdasarkan analisis FTIR bisa dikatakan bahwa kondisi optimum isolasi silikon yaitu pada suhu 850 °C.

Analisis kuantitatif silikon hasil metalotermis dilakukan dengan menggunakan AAS untuk menentukan kadar silikon yaitu pada panjang gelombang 251,6 nm, hasilnya yaitu tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar Silikon Hasil Metalotermis dari Silika p.a

No	Variasi Suhu (°C)	Kadar Silikon (%)
1	650	24,6848
2	750	26,9511
3	850	20,7162

Kadar silikon hasil metalotermis 850 °C lebih sedikit dibandingkan 650 dan 750 °C, namun kadar tersebut berdasarkan kadar silikon (Si) dan tidak ada campuran dengan SiO_2 berdasarkan data analisis FTIR. Kadar silikon pada produk 650 °C dan 750 °C kemungkinan tidak hanya dari Si namun juga dari SiO_2 jika dilihat dari hasil analisis FTIR.

Hasil penentuan massa jenis silikon hasil metalotermis yaitu :

Tabel 2. Massa Jenis (ρ) Silikon Hasil Metalotermis dari Silika p.a

No	Variasi Suhu (°C)	ρ (g/cm^3)
1	650	1,408
2	750	1,641
3	850	2,064

Massa jenis silikon kasar belum sama dengan massa jenis pada literatur karena silikon masih mengandung pengotor dan belum dalam keadaan murni, namun massa jenis silikon hasil metalotermis 850 °C mendekati dengan massa jenis silikon murni pada suhu kamar.

Isolasi silikon dari *fly ash* batubara dimulai dengan ekstraksi silika (SiO_2). Sampel *fly ash* direndam dalam aquades panas untuk mengurangi pengotor bahan organik larut air yaitu karbon sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi. Proses *leaching* dilakukan untuk menghilangkan oksida-oksida logam seperti Al_2O_3 , Fe_2O_3 , CaO yang dapat mengganggu proses ekstraksi silika.

Silika diekstraksi dengan pelarut NaOH dan pengendapan menggunakan menggunakan HCl. Pelarut NaOH dipilih karena silika dapat bereaksi dengan basa, terutama basa kuat seperti hidroksida alkali (Vogel, 1985). Silika hasil ekstraksi yaitu sebagai berikut :



Gambar 3. Silika (SiO_2) hasil ekstraksi

Tabel 3. Silika (SiO₂) Hasil Ekstraksi

Massa Fly Ash (gram)	Massa Silika rata-rata (gram)	Randemen (%)
25	3,598	39,078-47,58

Kandungan silika dalam *fly ash* sebanyak 30,25-36,83 % (PJB Paiton, 2002), sehingga berdasarkan teori jika silika terekstrak sempurna maka akan didapatkan silika sebanyak 7,5625-9,2075 gram. Randemen silika hasil ekstraksi yaitu 39,078-47,58 %. Massa silika hasil ekstraksi yang didapat pada penelitian ini lebih banyak jika dibandingkan dengan silika hasil ekstraksi yang telah dilakukan oleh Retnosari (2013) tanpa metode *leaching*, dimana proses ekstraksi silika dilakukan menggunakan 25 gram *fly ash* menghasilkan 1,2781 gram silika. Hal ini menunjukkan bahwa metode *leaching* (pengasaman) sebelum ekstraksi silika bisa meningkatkan kuantitas silika hasil ekstraksi.

Analisis gravimetri dilakukan untuk menentukan kadar silika hasil ekstraksi. Prinsip metode gravimetri yang digunakan pada penelitian ini yaitu penguapan, Kadar silika hasil ekstraksi tertera pada tabel 4.

Tabel 4. Kadar Silika Hasil Ekstraksi

Sampel	Kadar SiO ₂ (%)
Silika (SiO ₂)	29,057

Isolasi silikon dari silika hasil ekstraksi *fly ash* batubara dilakukan menggunakan kondisi optimum isolasi yaitu pada suhu 850 °C. Silikon hasil metalotermis berwarna abu-abu hitam (gambar 4), dimana warnanya mirip dengan silikon hasil metalotermis dari silika p.a pada 850 °C.



Gambar 4. Silikon hasil metalotermis dari *fly ash* batubara

Hasil analisis FTIR silikon hasil metalotermis yaitu pada gambar 5.

Gambar 5. Spektrum FTIR silikon hasil metalotermis dari silika *fly ash*

Spektrum FTIR yang menunjukkan gugus Si–O–Si dan gugus O–Si–O tidak terlihat, hal tersebut menandakan bahwa reduksi atom O pada silika telah terjadi secara sempurna. Spektrum FTIR ini hampir sama dengan spektrum FTIR silikon hasil metalotermis silika p.a 850 °C.

Hasil analisis AAS silikon hasil metalotermis dari *fly ash* batubara yaitu pada tabel 5.

Tabel 5. Kadar silikon hasil metalotermis dari silika *fly ash*

Suhu (°C)	Kadar Silikon (%)
850	19,5056

Kadar silikon (Si) kasar tersebut lebih kecil, namun selisihnya tidak terlalu jauh dengan dengan kadar silikon hasil metalotermis silika p.a 850 °C.

Massa jenis silikon hasil metalotermis yaitu pada tabel 6.

Tabel 6. Penentuan Massa Jenis (ρ)

Suhu Reaksi (°C)	ρ (g/cm ³)
850	1,927

Hasil massa jenis tersebut tidak sama dengan literatur yang ada, hal ini menandakan bahwa silikon hasil metalotermis masih terdapat pengotor.

KESIMPULAN

1. Suhu optimum isolasi silikon dengan reaksi metalotermis menggunakan reduktor Al yaitu 850 °C.
2. Kadar silikon hasil isolasi silika p.a pada 850 °C yaitu 20,716 % dan silikon dari silika *fly ash* batubara yaitu 19,5056 %.
3. Silikon hasil metalotermis dari silika p.a lebih baik dibandingkan dengan silikon hasil metalotermis dari silika *fly ash* batubara, hal ini berdasarkan data analisis yang ada.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada bapak dan ibu Dosen pembimbing dan penguji yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Terimakasih kepada teman-teman yang telah memberikan saran pada pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Armaina, Retnani., Bara'allo Malino, Mariana., Arman, Yudha. 2013. *Penentuan Celah energi (Energy Gap) Silikon Hasil Reaksi Metalotermis Aluminium dan Silika dari Abu Sekam Padi*. ISSN : 2337-8204. Jurnal Prisma Fisika, Vol.1, No. 1, Hal. 56-60. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Hosenainy, Desy. dkk. 2011. *Proses dan Sistem Kontrol di PT PJB Unit 1 dan 2 Paiton (1 juni-30 juni 2011)*. Laporan Praktik tidak diterbitkan. Malang : FMIPA UM.
- Okutani, Takeshi. 2009. *Utilization of Silica in Rice Hulls as Raw Materials for Silicon Semiconductors*. Journal of Materials and Minerals, Vol.19 No.20 pp.51-59.

- Paiton, PJB. 2002. *Material Safety Data Sheet. Probolinggo* : PT. Pembangkitan Jawa Bali Unit Pembangkit Paiton
- Retnosari, Agustin. 2013. *Ekstraksi dan Penentuan Kadar Silika (SiO₂) Hasil Ekstraksi dari Abu Terbang (Fly Ash) Batubara*. Skripsi. Jember : Kimia FMIPA UNEJ.
- Subakti, Anisah., B.Malino, Mariana., Nurhasanah. 2013. *Optimasi Kandungan Silikon dalam Produk Reaksi Metalotermis Silika dari Abu Sekam Padi dan Aluminium Berdasarkan Lama Waktu Reaksi*. ISSN : 2337-8204. Jurnal Prisma Fisika, Vol.1, No. 2, Hal. 1-3. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Subhan, Ahmad., Oemry, Achiar .,Ginting, Masno., Bayuwati, Dwi dan Dedih. 2002, *Pembuatan Wafer Kristal Tunggal Silikon Berkualitas untuk Sel Surya*, PDII-LIPI.

Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Turunan 5-Fluorourasil Melalui Proses Benzoilasi

Ika Oktavianawati^a, Sherla Febriany^b, Cahyaning Indri Aswikah^b, I Nyoman Adi Winata^a

^a:Jurusan Kimia, FMIPA UNEJ

^bFakultas Farmasi UNEJ

Jl. Kalimantan III/25 Jember, Jawa Timur 68121

ABSTRAK

5-Fluorourasil (5-Fu) adalah obat antikanker komersial yang potensial namun memiliki beberapa efek samping negatif pada penderita. Pada penelitian ini telah disintesis dua turunan dari 5-Fu melalui reaksi benzoilasi pada produk alkilasi 5-Fu (yaitu 1-hidroksimetil-5-Fu). Tahap esterifikasi yang dilakukan dalam penelitian ini merupakan reaksi benzoilasi dimana reaksi tidak membutuhkan katalis karena gugus benzoil yang digunakan sudah reaktif. Reaksi benzoilasi menggunakan substituen 2-klorobenzoilklorida dan 3-klorobenzoilklorida. Produk sintesis dari reaksi tersebut dikarakterisasi sifat fisiknya (warna dan titik leleh) serta diidentifikasi struktur senyawanya menggunakan FTIR dan ¹HNMR

Kata Kunci: Sintesis, Fluorourasil, Benzoilasi

PENDAHULUAN

5-Fluorourasil (5-Fu) adalah senyawa antimetabolit antikanker dengan sifat antagonis pirimidin. Bentuk struktur kimia senyawa utama dari antimetabolit adalah pirimidin. Banyak obat antikanker yang potensial yang mempunyai struktur dasar seperti pirimidin. Salah satunya adalah 5-Fu yang berpotensi dan diinvestigasi senyawa turunannya untuk mendapatkan efek antikanker yang lebih potensial.

Pada penelitian sebelumnya, Tian *et al.* (2007), telah disintesis beberapa senyawa turunan 5-Fu melalui reaksi esterifikasi menggunakan asam karboksilat. Namun rute sintesis tersebut dilaporkan memiliki kelemahan dimana senyawa produknya mempunyai efek yang lebih toksik pada uji *in vivo* terhadap sel tumor kanker jaringan hati dan paru-paru H22, serta memiliki efektivitas kurang memuaskan dibandingkan senyawa penuntunnya. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh sulitnya hidrolisis senyawa produk untuk dimetabolisme menjadi 5-Fu dalam kondisi pH fisiologis tubuh karena lipofilitas terlalu tinggi yaitu log P >2 (Siswando, 2000). Selain itu, penggunaan katalis DMAP (*N,N*-dimetilpiridin-4-amino) dan DIC (*N,N'*-disikloheksilkarbodiimida) pada reaksi esterifikasi sulit dipisahkan dari produk.

Berdasarkan keterangan di atas, maka dilakukan sintesis turunan 5-Fu melalui rute yang berbeda dengan harapan akan mempunyai efektifitas yang lebih baik dari 5-Fu dan toksisitas lebih rendah. Sintesis ini dilakukan dengan substitusi gugus alkil benzena menggunakan benzoilklorida karena sifat benzoil yang lebih reaktif dan tidak memerlukan katalis. Tujuan penambahan gugus alkil dan benzena pada posisi N nomor 1 tersebut diharapkan dapat meningkatkan sifat lipofilik, sterik dan elektronik 5-Fu. Perubahan sifat lipofilik ini diperoleh dari penambahan gugus benzoil yang diharapkan dapat memperbaiki penembusan

senyawa ke dalam dinding sel dengan nilai log P yang sesuai. Sedangkan penambahan gugus ester dan -Cl dapat mempengaruhi sifat elektronik ikatan antara obat-reseptor sehingga hasil sintesis mempunyai aktivitas antikanker yang lebih baik dan lebih lama dimetabolisme sehingga diharapkan akan mempunyai durasi yang lebih panjang. Sifat sterik berhubungan dengan berat molekul dan refraktivitas molar yang mempengaruhi senyawa obat untuk berikatan dengan reseptor.

Sintesis turunan 5-Fu yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan substituen benzoil klorida yaitu 2-klorobenzoilklorida dan 3-klorobenzoilklorida. Pada akhir sintesis, produk dipurifikasi dengan kromatografi kolom, lalu dikarakterisasi pula bentuk, warna, dan titik leleh serta identifikasi struktur menggunakan FTIR dan ¹HNMR

METODOLOGI

Bahan baku yang digunakan adalah 5-fluorourasil (Merck), 3-kloro-benzoilklorida (Merck), dan formaldehid (s.a.p.). dan bahan-bahan lain seperti aseton (p.a.), etil asetat (J.T. Baker), aquades, Trietilamin, HCl (Sigma Aldrich), NaHCO₃ (s.a.p.), Na₂SO₄ anhidrat (s.a.p.), heksan (p.a.), lempeng silica gel 60 F254 (Merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : peralatan gelas, oven, neraca analitik, Electrothermal melting point apparatus (Stuart SMP11), Agilent ¹HNMR 400 Hz, FTIR Shimadzu IR Prestige-21.

PROSEDUR

Sintesis dilakukan dalam dua tahap, yaitu reaksi alkilasi (pembentukan alkohol) dari 5-Fu dengan formaldehid dan reaksi esterifikasi (dengan reaksi

benzoilasi) dari alkohol, sebagai hasil reaksi tahap pertama, dengan substituent benzoilklorida.

Tahap pertama dilakukan dengan mereaksikan 5-Fu (0,625 mmol) dengan formaldehid 37% (0,968 mmol). Setelah dilarutkan dalam aquades, campuran dalam labu alas bulat direndam dalam *waterbath* suhu 60°C selama 6 jam dengan pengadukan yang menggunakan *stirer*. Senyawa produk tahap satu ini dikeringkan menggunakan rotary evaporator dan disebut dengan 1-hidroksimetil-5-fluorourasil (Tian *et.al.*, 2007).

Tahap kedua dilakukan dengan melarutkan 1-hidroksimetil-5-fluorourasil dengan aseton dan ditambahkan trietilamin pada suhu rendah menggunakan *ice bath*. Substituen klorobenzoilklorida (0,6875 mmol) yang sebelumnya dilarutkan dalam aseton lalu diteteskan sedikit demi sedikit hingga habis kedalam campuran sambil terus diaduk dalam *ice bath*. Campuran direfluks dalam suhu 40°C selama 6 jam lalu diuapkan pelarutnya (Puspaningtyas, 2011).

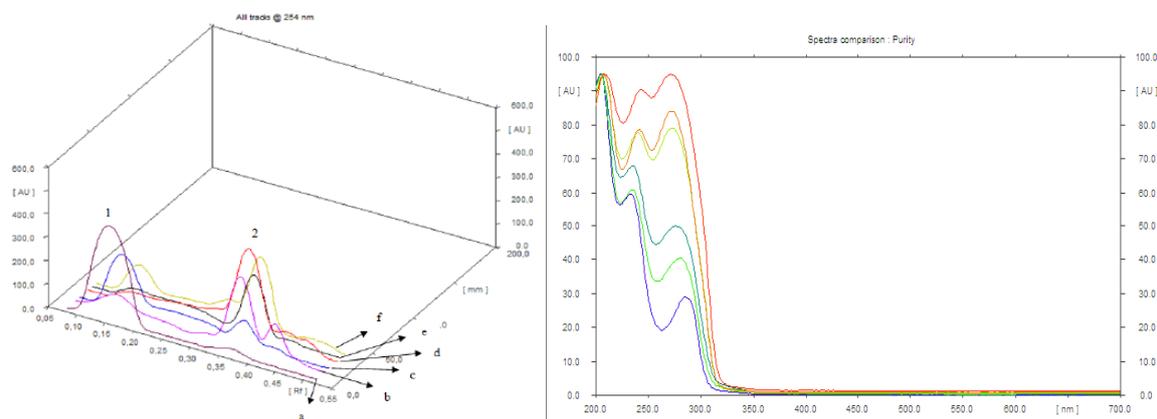
Residu diekstraksi cair-cair menggunakan aquadest dan etil asetat. Fase air dibuang kemudian dicuci dengan HCl pH 3-4 dan dilanjutkan dengan NaHCO₃ pH 7-8. Fase minyak

ditampung dan dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat. Fase minyak diuapkan pelarutnya hingga terbentuk residu. Residu dimurnikan dengan kromatografi kolom dan diuji kemurniannya dengan KLT-Densitometri. Eluen yang digunakan adalah heksan : aseton (6 : 4). Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa dengan FTIR dan ¹HNMR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produk sintesis 1-(2-klorobenzoiloksimetil)-5-Fu dan 1-(3-klorobenzoiloksimetil)-5-Fu yang telah dipurifikasi menggunakan kromatografi kolom, diperoleh persen hasil secara berturut-turut adalah 1,983% dan 1,474%. Produk senyawa memiliki bentuk serbuk hablur dan *voluminous*, warna putih kekuningan, larut dalam aseton, dengan titik leleh 193-194°C dan 166-167°C.

Kromatografi lapis tipis dilakukan pada fase diam lempeng silika gel 60 GF254, fase gerak heksana:aseton (6 : 4) dan penampak noda berupa lampu UV 254 nm. Hasil menunjukkan adanya noda yang memisah dengan baik dengan Rf pada rentang 0,2-0,8 dan tanpa *tailing*. Selanjutnya senyawa tersebut diuji kemurnian dengan KLT-Densitometri.



Gambar 1. Hasil *scanning* KLT-Densitometri senyawa (2-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil dan 1-(3-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil

Hasil KLT-densitometri tersebut (gambar 1) menunjukkan bahwa senyawa tersebut murni. Spektra senyawa 1-(3-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil dalam hasil tahap 2 dengan waktu refluks 4, 5, 6, 7, 8 jam dan fraksi senyawa 1-(3-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil menunjukkan kemiripan pola spektrum. Pada λ 254 nm pola terlihat mirip satu sama lain dengan

korelasi regresi antara *start* (awal) sampai *medium* (puncak) dari spektra dan *medium* (puncak) sampai *end* (akhir) dari spektra menunjukkan OK yaitu $r > 0,99$. Pola yang tidak saling berhimpitan antara satu dengan yang lain kemungkinan disebabkan oleh adanya perbedaan konsentrasi penotolan pada KLT.

Tabel 1. Tabulasi Data spektrum FTIR

Gugus fungsi	Bilangan gelombang pada 2-klorobenzoil (cm ⁻¹)	Bilangan gelombang pada 3-klorobenzoil 1 (cm ⁻¹)	Bilangan gelombang teoritis* (cm ⁻¹)
C=O amida	1680-1630	1656	1680-1630
N-H		3432	3500-3100
C-F	1200	1054	1400-1000

N-C	3222	1245	1350-1000
-OH	3800	3432	3400-3200
C=C aromatis		1454	1600 & 1475
C-H aromatis		2981	3150-3050
C=C alkena sp^2		3679	>3000

Identifikasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan menggunakan FTIR dan ^1H NMR. Karakteristik spektra senyawa IR kedua senyawa turunan 5-fluorourasil ini (Tabel 1) memperlihatkan bahwa terdapat pita spesifik yang tidak terdapat pada

senyawa asal 1-hidroksimetil-5-fluorourasil yaitu C=O ester pada bilangan gelombang 1707 cm^{-1} dan C-Cl pada bilangan gelombang 749 cm^{-1} dan yang tersubstitusi pada posisi *-meta* pada bilangan gelombang (**m**) 899 cm^{-1} (**s**) 791 cm^{-1} dan (**str**) 749 cm^{-1} .

Tabel 2. Tabulasi spektrum ^1H NMR pada dua produk senyawa turunan 5-Fu

Jenis Proton	Pergeseran kimia proton 2-kloro (ppm)	Pergeseran kimia proton 3-kloro (ppm)	Pergeseran kimia Chem Office (ppm)	Multiplisitas
N-H	-	10,6	10	Singlet
-CH ₂ -	8,096	6	6,12	Singlet
=CH-	5,974	7,58	7,39	Triplet
H aromatis	7,90	8,0	7,85	Doublet
H aromatis	7,453	7,72	7,31	Doublet
H aromatis	7,598	8,0	7,48	Doublet
H aromatis	7,535	8,1	7,98	Doublet

Data ^1H NMR yang diperoleh ditabulasikan pada Tabel 2. Adanya pita spesifik yang menunjukkan bahwa struktur kimia senyawa telah terbentuk yaitu gugus 2-klorobenzoil dan 3-klorobenzoil. 2-klorobenzoil dan 3-klorobenzoil terikat pada atom N senyawa 5-Fu melalui adanya proton pada -CH₂-. Pita ini sangat kuat didaerah 6 ppm dan proton didaerah 7,58-8,1 ppm yang bertumpuk-tumpah menandakan banyak proton pada senyawa aromatis yaitu dari cincin pirimidin dan benzoil. Integrasi proton NMR yang muncul adalah 1 : 1 : 2 : 1 : 1 : 2, hal ini sesuai dengan jumlah atom H pada hasil senyawa 1-(3-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil.

KESIMPULAN DAN KETERANGAN

Senyawa 1-(2-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil dan 1-(3-klorobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil telah berhasil disintesis dengan persen hasil 1,984 dan 1,474 %. Senyawa ini diketahui mempunyai bentuk serbuk hablur dan *voluminous* dengan warna putih kekuningan hingga kuning. Sedangkan untuk jarak lebur didapatkan 193-194 dan 166-167 °C.

Identifikasi senyawa dari spektra FTIR dan ^1H NMR diperoleh hasil yang sesuai dengan literatur.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIKTI atas dukungannya dalam pemberian dana Hibah Bersaing.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chem Office 2004 Software ver.8.0
- [2] Puspangitnyas, A. R. 2011. Modifikasi Struktur 5-FU dan Uji Sitotoksitas turunan 1-(benzoiloksimetil)-5Ffluorourasil Hasil Modifikasi terhadap Sel Kanker MCF-7 (Sebagai Upaya Pengembangan Obat Antikanker). Tidak Diterbitkan. Tesis. Surabaya: Program Studi Magister Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- [5] Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Jilid 1 Edisi ke-2. Surabaya : Airlangga University Press.
- [6] Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Jilid 2 Edisi ke-2. Surabaya : Airlangga University Press.
- [7] Siswandono, Soekardjo, B., dan Susilowati, R. 2003. Sintesis Benzoil-N-Sefadrin dan Ujiaktivitas Antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *JBP*. Vol.5(1), hal 36-40).
- [8] Tian, Z. Y., Du, G. J., Xie, S. Q., Zhao, J., Gao W. Y., dan Wang C. J. 2007. Synthesis and Bioevaluation of 5-Fluorouracil Derivatives. *Molecules*. Vol.12, hal 2450-2457.

Penentuan Tegangan Permukaan Sangat Rendah Menggunakan Metode ADSA-Overlay

Tri Mulyono^{*}, Dwi Indari, Moh Azhar Alhadir

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA; Universitas Jember

* E-mail: aztrimulyono@yahoo.com

ABSTRAK

Metode ADSA-Overlay disajikan untuk menganalisa gambar tetes untuk mengukur tegangan permukaan. Metode ini menghilangkan keperluan modul deteksi batas gambar dengan latar belakang gambar dan meningkatkan teknik ADSA-P (*Axisymmetric Drop Shape Analysis-Profile*). Dalam Skema ADSA-Overlay, gambar digital diperoleh melalui akuisisi gambar dengan alat mikroskop digital dan dilakukan perhitungan persamaan diferensial Young-laplace dengan metode numerik Runge-Kutta menggunakan software Labview. Pengujian dilakukan dengan menggunakan gambar image. Selanjutnya penentuan tegangan permukaan dilakukan dengan pencocokan perhitungan teoritis dengan profile gambar eksperimen. Hasil menunjukkan bahwa proses *curve fitting* metode ADSA-Overlay berhasil diterapkan pada image tetes yang memiliki tegangan permukaan sangat rendah

Kata Kunci: Surface tension, ADSA-Overlay, Runge-Kutta, Labview

PENDAHULUAN

Sifat antarmuka cair-cair sangat penting dalam banyak proses ilmiah dan teknologi. metode berbeda telah dikembangkan untuk mengukur sifat ini (Padday, 1968). Teknik bentuk tetes telah banyak digunakan dan merupakan metode yang paling akurat (Lahooti, *at all*, 1996). Gambar. 1 menunjukkan rangkaian eksperimental khas yang digunakan dalam metode bentuk tetes canggih seperti analisis bentuk tetes aksisymmetris (ADSA = *axisymmetric drop shape analysis*). ADSA memperoleh gambar tetesan suatu cairan (atau gelembung) dan mengekstrak profil eksperimental dari tetes menggunakan teknik deteksi tepi. Kemudian mencocokkan profil tetes teoritis dengan profil ekstrak eksperimental, menetapkan tegangan permukaan sebagai parameter yang dapat diatur. Sebuah fungsi kesalahan didefinisikan yang mengukur penyimpangan dari kurva teoritis dari profil eksperimental. Prosedur optimasi menemukan kesesuaian terbaik antara profil eksperimental dan profil teoritis dengan meminimalkan fungsi kesalahan. Kesuaian terbaik sesuai dengan nilai tegangan permukaan yang benar. Rincian metodologi ADSA dapat ditemukan pada beberapa literatur (Zhu, *at all*, 2002).

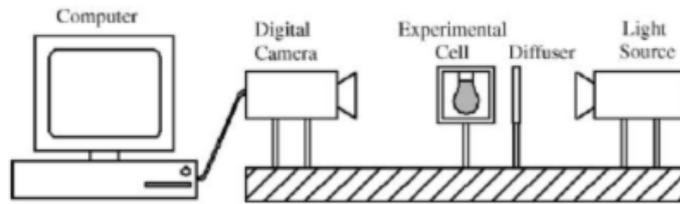
Akurasi ADSA sangat tergantung pada kualitas ekstraksi profil dengan deteksi batas tepi. Prosedur ADSA saat ini menggunakan metode deteksi tepi canggih, seperti sebagai Sobel dan Canny, bersama-sama dengan berbagai teknik pengolahan citra seperti koreksi distorsi dan interpolasi *spline cubic*. Namun demikian detektor, tepi mungkin gagal ketika akuisisi dari gambar yang tajam dan jelas dari tetes (atau gelembung) tidak mungkin karena keterbatasan eksperimental atau optik. Contohnya pengukuran tegangan permukaan dan sudut kontak logam cair menggunakan konfigurasi *sessile drop* (keterbatasan optik) (Lu, *at all*, 1999), dan percobaan gelembung

capture untuk penelitian surfaktan paru-paru, di mana karena ekaburan dari larutan atau adanya gumpalan, sehingga gambar nampak kabur atau berisik (Rotenberg, *at all*, 1983).

ADSA yang berdasarkan pada bentuk antarmuka cair / cair, adalah kompleks tetapi dapat disesuaikan dengan berbagai situasi eksperimental termasuk *pendant drop*, *sessile drop* dan gelembung. Secara singkat, ASDA mencocokkan profil tetes / gelembung yang diekstrak dari gambar eksperimental terhadap kurva Laplacian teoritis untuk diketahui nilai tegangan permukaan dengan menggunakan prosedur optimasi nonlinier (Saad, *at all*, 2011). Fungsi tujuan yang digunakan untuk mengevaluasi perbedaan antara kurva Laplacian teoritis dan profil yang sebenarnya. Fungsi tujuan ini adalah jumlah kuadrat dari jarak normal antara titik-titik yang diukur (yaitu kurva percobaan) dan kurva dihitung (Saad, *at all*, 2011). Prosedur optimasi meminimalkan fungsi tujuan dan, oleh karena itu untuk menemukan nilai tegangan permukaan yang sesuai dengan profil yang diambil dari gambar eksperimental. Tujuan penelitian ini adalah membuat program ADSA-Overlay untuk penentuan tegangan antarmuka ultra rendah.

METODE PENELITIAN

ADSA-Overlay terdiri dari tiga modul utama. modul pertama adalah modul pengolahan gambar, yang melakukan deteksi tepi dan perhitungan agregat sifat geometris menggunakan prosedur semi-otomatis. Modul kedua menghasilkan bentuk teoritis dari agregat sel ideal untuk tegangan permukaan hipotetis. Modul ketiga adalah optimasi yang menemukan perbandingan terbaik di antara profil teoritis dan tegangan permukaan yang sesuai. Cara mendapat image/gambar bentuk tetes diperoleh dengan rangkaian alat seperti yang ditunjukkan gambar 1.



Gambar 1. Rangkaian eksperimen teknik bentuk tetes modern seperti ADSA

Modul pengolahan gambar digital

Dalam modul ini, profil eksperimental, yang terdiri dari serangkaian titik-titik koordinat, diekstrak dari citra tetes. Gambar-gambar dari tetes yang dikonversi dari gambar warna gambar digital tingkat abu-abu. Tingkat abu-abu untuk setiap pixel dalam gambar adalah antara 0 dan 255, yang mewakili hitam dan putih. Sebuah detektor tepi khas yang disebut Canny, yang tersedia sebagai fungsi built-in pada Labview Development Vision Module (NI), digunakan. Beberapa parameter detektor tepi Canny, seperti ambang batas, secara manual disesuaikan untuk mendapatkan profil tetes yang diinginkan. Beberapa properti geometris (volume dan sumbu utama) dari tetes yang diperlukan untuk modul optimasi. Sumbu utama cluster dengan mudah dihitung dari koordinat titik-titik yang diekstraksi dengan detektor tepi.

Antarmuka fluida cairan aksisymmetris

Secara matematis, keseimbangan antara tegangan permukaan dan kekuatan eksternal, seperti gravitasi, diberikan oleh persamaan kapilaritas Laplace:

$$\gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) = \Delta P \quad \dots\dots\dots 1$$

di mana γ adalah tegangan permukaan, R_1 dan R_2 adalah dua jari-jari kelengkungan utama, dan ΔP adalah perbedaan tekanan pada antarmuka. Sifat permukaan dapat diukur dengan menganalisis bentuk eksperimental antarmuka udara-cairan dan membandingkannya dengan solusi dari persamaan Laplace. Dalam medan gravitasi menunjuk ke arah z, persamaan Laplace dapat ditulis sebagai :

$$\frac{dx}{ds} = \cos\theta \quad \dots\dots\dots 2$$

$$\frac{dz}{ds} = \sin\theta \quad \dots\dots\dots 3$$

$$\frac{d\theta}{ds} = \frac{z}{x} - \frac{\sin\theta}{x} \quad \dots\dots\dots 4$$

$$c = \frac{(\Delta\rho)g}{\gamma}$$

Di mana

di mana ϕ adalah sudut kemiringan antarmuka ke horizontal (arah x), s adalah panjang busur sepanjang antarmuka, b adalah kelengkungan pada apeks, l/c adalah kuadrat panjang kapiler, g adalah percepatan gravitasi, dan $\Delta\rho$ adalah perbedaan kerapatan antara dua fase massal.

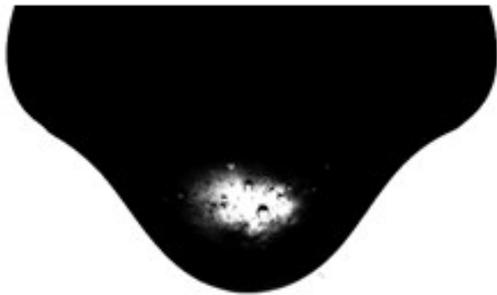
Sebuah program yang disebut interface-cairan liquid axisymmetric (ALFI) diperkenalkan oleh del Rio dan Neumann (del Rio, *at all*, 1997) untuk integrasi numerik dari persamaan Laplace untuk menghasilkan profil teoritis penurunan. ALFI memprediksi bentuk tetes untuk diberikan tegangan permukaan, perbedaan densitas, percepatan gravitasi, dan profil kelengkungan pada puncak. Volume dan koordinat dari titik-titik yang membentuk profil teoritis adalah output dari ALFI. ALFI awalnya ditulis dalam bahasa C menggunakan Library Fortran, dan sekarang telah ditulis ulang Labview untuk memudahkan dari antarmuka yang user-friendly dari Labview. Untuk versi baru dari ALFI di Labview, persamaan diferensial langkah multi-solver disebut Adams-Bashforth-Moulton diterapkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Software analis bentuk pendant drop yang dibuat dalam penelitian ini menggunakan labview yang dapat digunakan untuk untuk mengukur tegangan antar muka ultra-rendah sistem liquid-cairan berdasarkan metode pendant/liontin drop. Naliser bentuk tetes Labview dapat bersesuaian dengan seperti bentuk tetes lebih efektif sedangkan beberapa program analiser bentuk tetes komersial mengalami kegagalan ketika digunakan untuk menganalisa bentuk tetes karena kemudian mengadopsi metode *fitting* persamaan Young-Laplace s berdasarkan pemilihan bdang pada gambar tetes. (Metode Hansen atau metode B. Song). Koefisien kesesuaian *Bond Number* perlu dicari berdasarkan eksperimen dengan serangkaian cairan yang telah diketahui *Bond Number*. Tapi nilai tegangan antar muka terendah cair yang diketahui sekitar 1.8mN / m, dan bentuk *drop* sistem-cairan dengan tegangan permukaan ultra-rendah sangat berbeda.

Algoritma optimasi ADSA-Overlay memperkenalkan algoritma seperti pencocokkan dan menemukan *Bond Number* pada awalnya pencocokkan dimensi proses persamaan Young-Laplace untuk menemukan relevansi antara tegangan permukaan dan

jari-jari kelengkungan, dan kemudian dilakukan penyesuaian lagi persamaan Laplace-Young untuk menemukan tegangan permukaan. Tapi berbeda pencocokan persamaan Young-Laplace metode dengan menggunakan metode pemiliha. *Bond Number* dihitung dengan memilih beberapa poin yang khas (seperti 30,45,60 titik yang memotong profile tetes atau perbandingan D_s / D_e). Setelah *Bond Number* dihitung, Titik-titik tersebut dicocokkan lagi persamaan Young-Laplace untuk menemukan tegangan permukaan dan jari-jari kelengkungan. Gambar 1 adalah gambar pendant drop asli dari tegangan antar muka dari sistem cair-cair. Gambar tersebut harus diubah menjadi 8-bit format gambar BMP untuk perangkat lunak analisis bentuk bentuk tetes yang dibuat oleh seseorang lainnya.

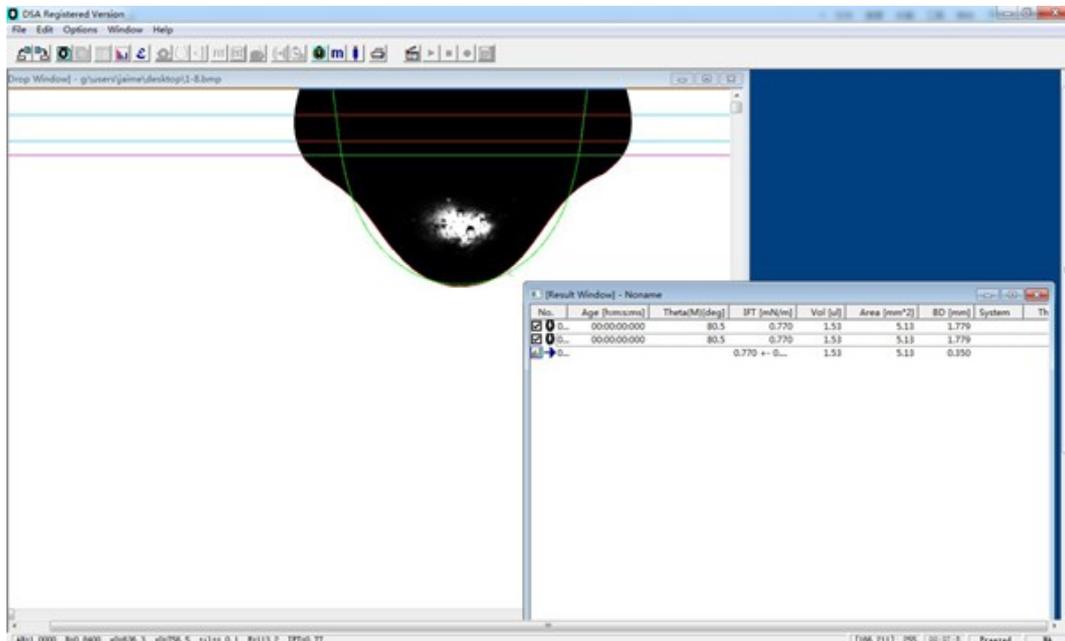


Gambar 1. Gambar pendant drop asli dari tegangan antar muka dari sistem cair-cair dengan nilai tegangan permukaan sangat rendah.

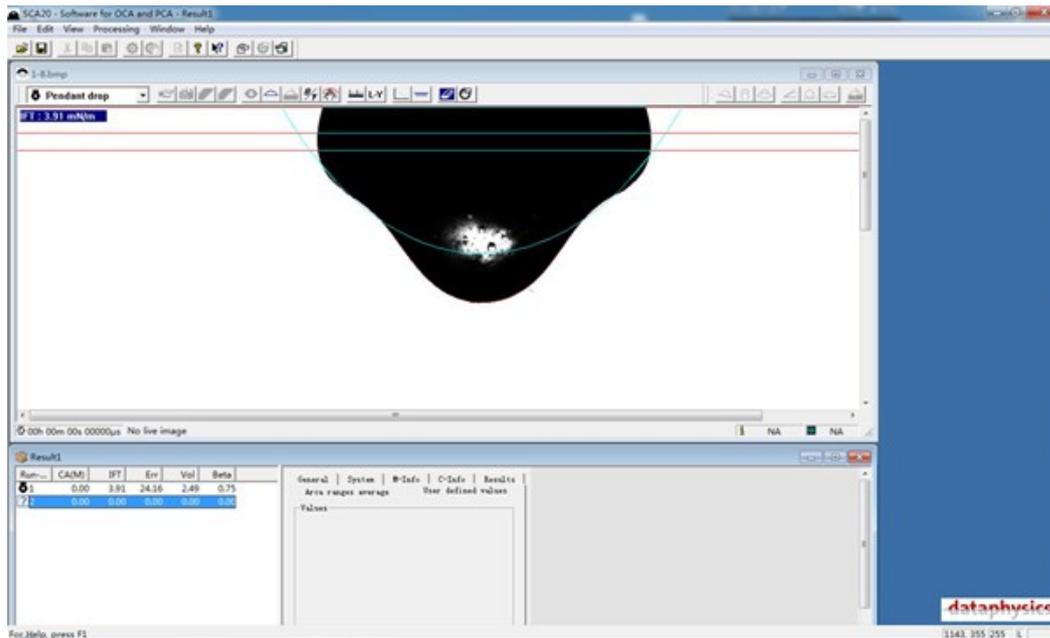
Terlihat pada gambar 3 bahwa proses pencocokan/*fitting* terhadap persamaan Laplace-Young mengalami kegagalan dalam software ini.

Bila analisa bentuk tetes dilakukan dengan metode ADSA-Overlay seperti yang dibuat pada hasil penelitian ini menunjukkan *curve fitting* mengalami kesesuaian yang jauh lebih baik dibandingkan hasil *curve fitting* dengan menggunakan software analisis bentuk tetes komersial seperti yang ditunjukkan pada gambar 3 dan 4. Pada bagian pengeplotan titik-titik (nilai x, y yang diperoleh dari penyelesaian persamaan differensial Young-Laplace) memperlihatkan profile bentuk tetes sesuai dengan hasil eksperimen.

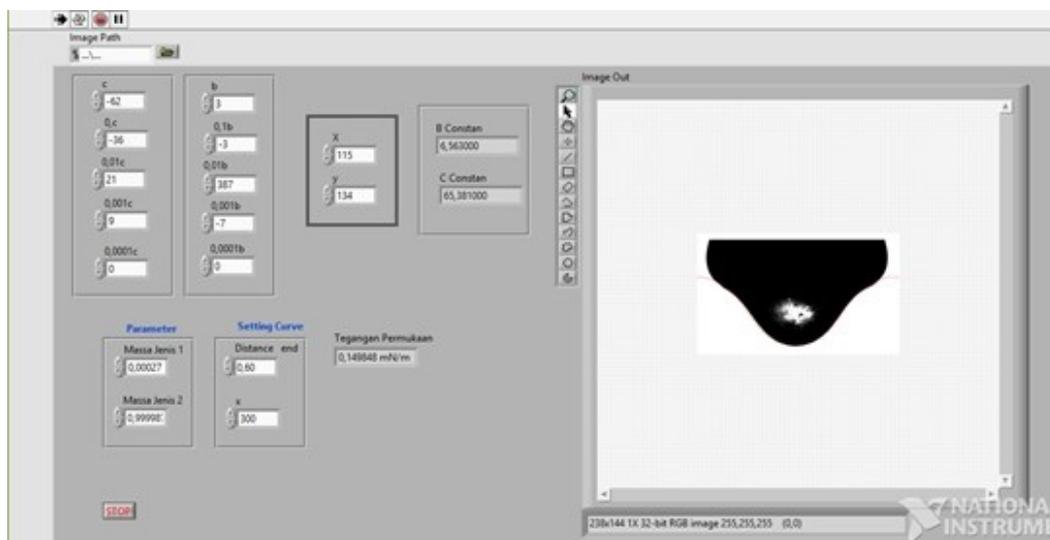
Sementara itu ada software komersial yang menunjukkan keberhasilan dalam analisa bentuk tetes yaitu CAST3.0 based on *RealDrop* or ADSA method. Tampilan gambar diperlihatkan pada gambar 5.



Gambar. 2 Pengukuran tegangan antarmuka sistem cair-cairan menggunakan setetes software analisis bentuk tetes DSA 1,9 dengan metode liontin drop (pendant drop).



Gambar. 3 Pengukuran tegangan Antarmuka sistem-cairan menggunakan software analisis bentuk tetes OCA 20 dengan metode liontin drop. Kita dapat menemukan bahwa proses fitting juga menjumpai kegagalan dalam software ini.



Gambar 4. Pengukuran tegangan antara cair-cair menggunakan metode ADSA-Overlay yang berbasis software Labview.

KESIMPULAN

Dengan menggunakan software Labview, Tensiometer permukaan sistem cair-cair berhasil dibuat dan telah teruji keberhasilannya dalam analisa tetes cairan. Dari hasil analisa cairan ini selanjutnya bisa ditentukan nilai tegangan permukaan ultra rendah suatu cairan yang sulit dicapai dengan alat tensiometer biasa.

DAFTAR PUSTAKA

Cheng P., D. Li, L. Boruvka, Y. Rotenberg, A. W. Neumann, 1990, Automation of Axisymmetric Drop Shape Analysis for measurements of interfacial tensions and contact angles, Journal of Colloids and Surfaces 43 (2-3): 151-167.

- Del Rio OI., Neumann A.W., 1997, Axisymmetric Drop Shape Analysis: Computational methods for the measurement of interfacial properties from the shape and dimensions of pendant and sessile drops, *Journal of Colloid and Interface Science* 196 (2):136-147.
- Hoorfar M., A.W. Neumann. 2004. Axisymmetric drop shape analysis (ADSA) for the determination of surface tension and contact angle, *J. Adhesion*, 80, 727–747.
- Jennings Jr J.W., N.R. Pallas,. 1988 An efficient method for the determination of interfacial tensions from drop profiles, *J. Langmuir* 4, 959.
- Lahooti S., O.I. del R'io, P. Cheng, A.W. Neumann, in: A.W. Neumann, J.K. Spelt (Eds.), 1996. *Applied Surface Thermodynamics*, vol. 1, Marcel Dekker, New York, p. 441.
- Lu J.Y., J. Distefano, K. Philips, P. Chen, A.W. Neumann, 1999. Effect of the compression ratio on properties of lung surfactant (bovine lipid extract surfactant) films, *Resp.Physiol.* 115 55–71.
- Neumann A.W., R.J. Good, in: R.J. Good, R.R. Stromberg (Eds.). 1979. *Experimental Methods in Surface and Colloid Science*, vol. 11, Plenum, New York, pp. 31–91.
- Padday J.F., in: E. Matijević (Ed.). 1968. *Surface and Colloid Science*, vol. 1, Wiley, New York, p. 101.
- Rotenberg Y., L. Boruvka, A. W. Neumann,. 1983. Determination of surface tension and contact angle from the shapes of axisymmetric uid interfaces, *Journal of Colloid and Interface Science* 93 (1): 169-183.
- Saad SMI., Z. Policova, A. W. Neumann, 2011. Design and accuracy of pendant drop methods for surface tension measurement, *Journal of Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 384 (1-3):442-452.
- Zhu J., A. Kamiya, T. Yamada, W. Shi, K. Naganuma,. 2002. Surface tension, wettability and reactivity of molten titanium in Ti/yttria-stabilized zirconia system, *Mater. Sci. Eng. A* 327 117–127.

