

JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 2 Nomor 1

Maret, 2013



*Media untuk
mempublikasikan
hasil-hasil penelitian
seluruh dosen dan
mahasiswa
Kimia FMIPA
Unand*

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Andalas

Tim Editorial Jurnal Kimia Unand

Dr. Syukri
Dr. Adlis Santoni
Prof. Dr. Rahmiana Zein
Prof. Dr. Syukri Arief
Dr. Mai Efdi

Sekretariat

Sri Mulya

Alamat Sekretariat

Jurusan Kimia FMIPA Unand
Kampus Unand Limau Manis, Padang-25163
PO. Box 143, Telp./Fax. : (0751) 71 681
Website Jurnal Kimia Unand = www.jurnalsain-unand.com
Corresponding e-mail = syukri@fmipa.unand.ac.id
srimulya@rektorat.unand.ac.id

DAFTAR ISI

JUDUL ARTIKEL	Halaman
1. ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF KULIT BATANG KECAPI (<i>Sandoricum koetjape</i> Merr) DAN UJI BIOAKTIFITAS "BRINESHRIMPS LETHALITY BIOASSAY". Whendy Aria Utama, Mai Efdi, dan Adlis Santoni	1-5
2. UJI ANTIOKSIDAN DAN ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI DAUN SRIKAYA (<i>Annona squamosa</i> L). Meri Mulyani, Bustanul Arifin, Hazli Nurdin	6-12
3. DEGRADASI SENYAWA SIPERMETRIN DALAM PESTISIDA RIPCORD 5 Ec SECARA OZONOLISIS DENGAN MENGGUNAKAN TiO ₂ /ZEOLIT SEBAGAI KATALIS. Wilda Rahmi, Zilfa, dan Yulizar Yusuf	13-17
4. OPTIMIZATION OF PROTEASE ACTIVITY FROM LACTIC ACID BACTERIA (LAB) <i>Pediococcus pentosaceus</i> ISOLATED FROM SOURSOP FERMENTATION (<i>Annona muricata</i> L.). Wilda Liona Suri, Sumaryati Syukur, Jamsari	18-25
5. ANALISIS pH, BOD, COD, LOGAM (Pb, Cu, Cd, Fe, dan Zn) PADA DRAINASE FAKULTAS MIPA DAN FAKULTAS FARMASI UNAND. Ardhiko Amril, Refilda, Bustanul Arifin	26-33
6. PENENTUAN KANDUNGAN UNSUR HARA MIKRO (Zn, Cu, DAN Pb) DIDALAM KOMPOS YANG DIBUAT DARI SAMPAH TANAMAN PEKARANGAN DAN APLIKASINYA PADA TANAMAN TOMAT (<i>Solanum lycopersicum</i> Mill). Yuli Afrida Yanti, Indrawati, Refilda	34-40
7. DEGRADASI SENYAWA PROFENOFOS DALAM INSEKTISIDA CURACRON 500EC SECARA OZONOLISIS DENGAN PENAMBAHAN TIO ₂ /ZEOLIT. Yosi Febrika, Zilfa, Safni	41-45
8. PENENTUAN KONDISI OPTIMUM AKTIVITAS KATALITIK MANGAN(II) YANG DIGRAFTING PADA SILIKA MODIFIKASI. Noerma Sari FN, Syukri, Zulhadjri	46-53

9. ISOLASI TRITERPENOID DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*).
Fathur Rahmat Putra, Afrizal, Mai Efdi 54-58
10. PENENTUAN KONDISI OPTIMUM AKTIFITAS KATALITIK Ni(II)-ASETONITRIL YANG DIAMOBILISASI PADA SILIKA MODIFIKASI UNTUK REAKSI TRANSESTERIFIKASI.
Rika Mulya Sari, Syukri Darajat, Syukri Arief dan Admi 59-67
11. PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK *Weisella paramesenteroides* ISOLAT DADIAH SEBAGAI ANTI DIARE PADA MENCIT (*Mus musculus*).
Reno Purnama Zalni, Sumaryati Syukur, dan Endang Purwati 68-76
12. SINTESIS DAN KARAKTERISASI KOMPOSIT YANG BERBAHAN DASAR KITOSAN, SILIKA DAN KALSIMUM FOSFAT.
Rido Junaidi, Syukri Arief, Syukri 77-82
13. ISOLASI DAN KARAKTERISASI TRITERPENOID DARI FRAKSI N-HEKSAN PADA KULIT BATANG SRIKAYA (*ANNONA SQUAMOSA* L).
Ridhia, Sanusi Ibrahim, Mai Efdi 83-86
14. ISOLASI TRITERPENOID DAN UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG SIRSAK (*Annona muricata* Linn.)
Ayu Kurnia Dwi Putri Suhandu, Adlis Santoni, Mai Efdi 87-92
15. ENGGUNAAN REDUKTOR ORGANIK DAN ANORGANIK PADA PROSES SINTESIS NANOPARTIKEL Fe₃O₄ DENGAN METODE KOPRESIPITASI
Nela Roska Yuliani, Syukri Arief, dan Upita Septiani 93-97
16. STUDI OPTIMASI PENENTUAN SENG SECARA VOLTAMMETRI STRIPPING ADSORPTIF (AdSV)
Deswati, Hamzar Suyani dan Nesya Chairini 98-106
17. PRODUKSI BIOETANOL DARI TONGKOL JAGUNG DENGAN METODA SIMULTAN SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI
Mitra Oktavia, Elida Mardiah, Zulkarnain Chaidir 107-112
18. FERMENTASI ANAEROB DARI CAMPURAN KOTORAN AYAM DAN KOTORAN SAPI DALAM PROSES PEMBUATAN BIOGAS
Try Sutrisno Wibowo, Abdi Dharma, dan Refilda 113-118

19. **ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA TRITERPENOID DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN SURIAN (*Toona sureni* (Blume) Merr)** 119-123
Beni Antira, Hazli Nurdin, dan Adlis Santoni
20. **ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUAH SIKADUDUK (*Melastoma malabathricum* L.) SERTA APLIKASI SEBAGAI PEWARNA ALAMI** 124-127
Fania Sari Arja, Djaswir Darwis, dan Adlis Santoni

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF KULIT BATANG KECAPI (*Sandoricum koetjape* Merr) DAN UJI BIOAKTIFITAS "BRINESHRIMPS LETHALITY BIOASSAY"

Whendy Aria Utama, Mai Efdi, dan Adlis Santoni

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: maiefdi@yahoo.com

Jurusan Kimia, FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

This study has identified a triterpenoid compound in ethyl acetate extract from the stem bark of *Sandoricum koetjape* Merr with cytotoxic activities further explored previously. The triterpenoid compound contained in ethyl acetate extract of *Sandoricum koetjape* Merr was analyzed under Liebermann-Burchard, resulting in reddish. The compound gave 252,4 - 253,6 °C in melting point test. Based on Brine Shrimps Lethality Bioassay test, LC₅₀ value of ethyl acetate extract was 164,437 µg/ml. Analysis with UV-Vis produces the maximum absorption peak at 204 nm refer to presence of double bond (not conjugate). Analysis IR spectroscopy gives absorption at 3220 cm⁻¹ (-OH), 2931 cm⁻¹ (C-H), 1705 cm⁻¹ (C=O), 1190 cm⁻¹ (C-O), 1384 cm⁻¹ and 1458 cm⁻¹ (gem-dimethyl)

Keywords: *Sandoricum koetjape* Merr, triterpenoid, toxicity, *Brineshrimps Lethality*

I. Pendahuluan

Tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk produksi kayu, dalam beberapa hal secara langsung ataupun tidak tumbuhan hutan dapat dimanfaatkan untuk tujuan non-kayu. Untuk jangka panjang usaha hasil hutan non-kayu ini tidak kalah pentingnya bila dikelola secara tepat. Salah satu usaha hasil hutan nonkayu yang dapat dikembangkan selain sebagai sumber bahan bangunan dan bahan obat-obatan tradisional juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber insektisida¹

Satu diantara ribuan jenis tumbuhan dalam hutan tropis yang menarik dari segi fitokimia dan biologi adalah famili Meliaceae, tumbuhan ini banyak mengandung senyawa yang berfungsi sebagai insektisida, *antifeeding*, *insect-repellent* serta juga sebagai antiinflamatory, antioksidan, sitotoksik, dan antitumor¹

Salah satu dari tumbuhan family Meliaceae yang menarik adalah *Sandoricum koetjape* Merr . Penelusuran literatur terhadap tumbuhan *Sandoricum koetjape* Merr diketahui bahwa belum banyak penelitian yang mengungkapkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai insektisida alami. Adapun penelitian yang telah dilaporkan diantaranya, Gonzales, *et al* bahwa melaporkan *Sandoricum koetjape* Merr asam askorbat². Kemudian asam katonat dan senyawa asam 2-okso-olean-12-en-oat. Kedua senyawa tersebut menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel P-388. Keneda, *et al* melaporkan tiga senyawa yang tidak aktif yaitu senyawa (-) -alloaromadendren, (-) -Karyofilen, dan (+) -Spatulenol. Asam briononat dan Asam brionolat, Mesoinositol dan Dimetil mukat dilaporkan oleh Sim pada tahun 1972. Pancharoen, *et al* juga melaporkan dua

senyawa limonoid yang isolasi dari daun *Sandoricum koetjape* Merr yaitu Sandoripin A dan Sandoripin B³. Mai Efdi, dkk telah melaporkan adanya 2 buah senyawa, yaitu asam sentul dan asam 3-oxoolean-12-27-oat⁶ dari ekstrak kulit batang kecapi dimana senyawa ini bersifat sitotoksik terhadap kanker yang menyebabkan leukemia pada manusia.

Dengan pertimbangan diatas, diketahui bahwa penelitian tentang tumbuhan Kecapi, *Sandoricum koetjape* Merr masih sedikit adanya laporan tentang kandungan senyawa kimia yang aktif sitotoksik maka perlu dilakukan penelitian terhadap aspek kimia dan aktifitas sebagai sitotoksik dari *Sandoricum koetjape* Merr. Penelitian ini sekaligus memberikan informasi tentang kemotaksonomi dan enobotani dari tumbuhan *Sandoricum koetjape* Merr

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, rotary evaporator Heidolph WB 2000, oven, kertas saring Whatman no.42, kolom kromatografi, peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium, chamber, plat KLT, lampu UV $\lambda = 254$ dan 356 nm, Fisher melting point apparatus, spektrofotometer ultraviolet Secoman S1000 PC dan FTIR Perkin Elmer 1600 series. wadah pembiakan larva, aerator, pipet mikro, pipet tetes, dan vial yang telah dikalibrasi.

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit batang kecapi sebagai sampel yang telah dikeringanginkan, metanol (CH_3OH), etil asetat ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), heksan (C_6H_{14}), klorofom 5% (CHCl_3), asam klorida pekat (HCl), logam magnesium (Mg), besi (III) klorida (FeCl_3), anhidrida asetat, asam sulfat pekat (H_2SO_4), pereaksi Meyer, akuades, alumunium foil, dan silika gel 60 (0,063-0,200 mm) keluaran Merck. larva udang *Artemia salina*, air laut, dan dimetilsulfoksida (DMSO).

2.2. Prosedur penelitian

Bahan yang digunakan adalah kulit batang kecapi yang diambil di hutan Biologi UNAND kira kira 2,4 kg, dipotong kecil kecil dan dikeringanginkan. Lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk hingga didapatkan sebanyak 800 g. Serbuk tersebut direndam dengan menggunakan pelarut, n-heksan, etil asetat, dan metanol selama ± 4 hari berulang ulang. Ekstrak yang didapat di uapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak pekat.

Selanjutnya pengerjaan dilanjutkan terhadap fraksi etil asetat. Fraksi ekstrak pekat etil asetat dilanjutkan dengan kromatografi kolom dengan menggunakan fasa diam silika gel 60 (0,063-0,200 mm) sebanyak 90 gram dan sampel yang digunakan sebanyak 4 gram dengan menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat yang dimulai dengan perbandingan n-heksan : etil asetat 10:0 hingga 0:10 sebagai fasa gerak dengan menggunakan sistem Step Gradient Polarity (SGP). Lalu dilakukan rekromatografi kolom untuk mendapatkan senyawa yang lebih murni, dimulai dengan eluen n-heksan : etil asetat (1:0) hingga (5:5)

Senyawa murni yang didapat diuji kemurnian dengan uji titik leleh dan dikarakterisasi dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard, FTIR Perkin Elmer 1600 series dan lampu UV $\lambda = 254$ dan 356 nm. Selanjutnya dilakukan uji sitotoksik dengan menggunakan metode Brineshrimp Lethality Bioassay (BSLT)

2.3 Uji Sitotoksik

Salah satu cara untuk menapis kandungan senyawa aktif biologis dari tanaman adalah dengan menggunakan metoda "Brine Shrimps Lethality Bioassay". Metoda ini pertama kali dilakukan oleh Meyer dkk (1982). Metoda ini dapat digunakan sebagai petunjuk untuk senyawa sitotoksik.

Hewan percobaan yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Larva ini

diperoleh dengan cara menetasakan telur udang selama 48 jam dalam wadah pembiakan. Wadah pembiakan terdiri atas dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Wadah pembiakan ini kemudian diisi dengan air laut, dan telur udang yang akan ditetasakan ditempatkan pada bagian gelap.

Diperlukan 9 vial uji dan 3 vial kontrol untuk masing ekstrak dalam pengujian ini. Vial yang digunakan terlebih dahulu dikalibrasi atau ditandai pada volume tepat 5 mL

Persiapan sampel uji dibuat variasi konsentrasi 10, 100, 1000 mg/mL tiap tiap fraksi. Untuk larutan kontrol disiapkan 3 vial yang tidak berisi larutan sampel. Selanjutnya vial yang berisi larutan uji diuapkan pelarutnya, kemudian ditambahkan 50 µL DMSO dan 2 mL air laut. Hal yang sama juga dilakukan terhadap vial kontrol.

Ke dalam vial uji dan vial kontrol dimasukkan 10 ekor larva udang yang telah ditetasakan selama 48 jam. Volume masing-masing vial dicukupkan hingga 5 mL dengan air laut. Jumlah larva yang mati dihitung setelah 24 jam. Dari data tersebut dapat dihitung nilai LC₅₀. Skema penelitian terlihat pada Gambar 1

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi

Sebanyak 800 gram sampel halus dimaserasi berkali kali dengan menggunakan pelarut n-heksan (C₆H₁₄), etil asetat (C₄H₈O₂), dan metanol (CH₃OH) didapatkan ekstrak pekat sebanyak 17,34 g, 12,12 g, dan 21 g, dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil maserasi

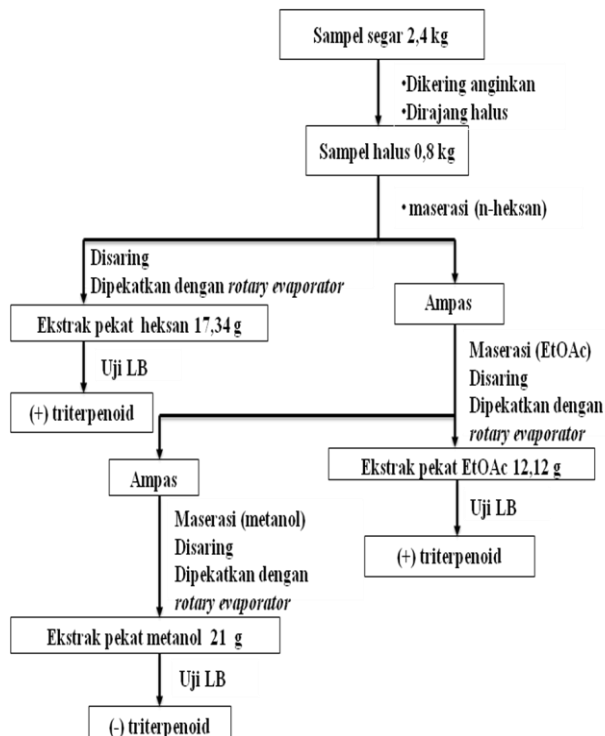
No	Fraksi	Berat (g)	Warna
1.	n-Heksana	17,34	Kuning
2.	EtOAc	12,12	Kuning kemerahan
3.	MeOH	21	Merah

3.2 Pemisahan dan pemurnian

Hasil kromatografi kolom dari fraksi etil asetat didapatkan sebanyak 163 vial dan dilakukan penggabungan fraksi berdasarkan pola noda dan R_f yang sama, sehingga didapatkanlah sebanyak 14 fraksi.

Lalu hasil rekromatografi kolom pada vial 28, karena pada vial tersebut noda mempunyai pola noda dan harga R_f yang sederhana yaitu 0,61 dan 0,85. Dari hasil rekromatografi kolom inilah didapatkan senyawa murni dengan nilai R_f dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil KLT senyawa hasil isolasi dengan beberapa perbandingan eluen didapatkan noda tunggal, ini mengindikasikan bahwa senyawa yang diisolasi telah murni. Dari hasil pengujian titik leleh didapatkan titik leleh dari senyawa ini adalah sebesar 252,4 °C - 253,6



Gambar 1. Skema kerja

°C . Rentang titik leleh senyawa yang didapatkan adalah 1,2 °C ini mengindikasikan bahwa senyawa telah murni karena senyawa dapat dikatakan murni apabila titik lelehnya mempunyai rentang ± 2 °C

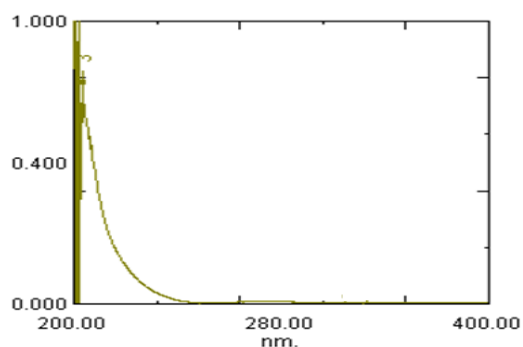
Tabel 2. Nilai Rf senyawa hasil isolasi

No.	Eluen	Rf
1.	heksan : EtOAc (8 : 2)	0,52
2.	heksan : EtOAc (7 : 3)	0,58
3.	Dichlorometan : EtOAc (7 : 3)	0,62
4	Dichlorometan 100%	0,09

3.3 Karakterisasi

Hasil uji Lieberman-Burchard pada senyawa hasil isolasi adalah timbulnya bercak merah pada plat tetes setelah senyawa ditambah pereaksi LB. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk dalam golongan triterpenoid.

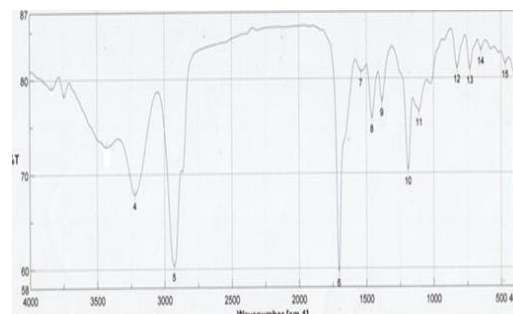
Spektrum UV dari senyawa murni yang telah berhasil diisolasi memberikan serapan maksimum pada λ_{max} : 204 nm ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum UV-Tampak senyawa hasil isolasi

Berdasarkan panjang gelombang yang dapat dilihat pada Gambar, yaitu pada λ 204 nm menunjukkan bahwa adanya ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi yang terdapat pada senyawa hasil pemurnian.

Hasil pengukuran spektroskopi inframerah memperlihatkan beberapa pita serapan yang terlihat pada pada Gambar 3



Gambar 3. Spektrum Inframerah senyawa hasil isolasi

Pada spektrum memperlihatkan beberapa angka gelombang, yaitu pita serapan OH bebas pada vibrasi regangan didaerah 3220 cm^{-1} yang didukung oleh adanya C-O stretching pada daerah 1190 cm^{-1} . Pada angka gelombang 2931 cm^{-1} mengindikasikan adanya puncak C-H alifatis. Pada angka gelombang 1705 menurut literatur mengindikasikan adanya gugus C=O keton .Geminal dimetil yang merupakan serapan khas senyawa golongan terpenoid ditunjukkan pada daerah 1384 cm^{-1} dan 1458 cm^{-1} 5,6

3.4 Hasil Uji Toksisitas dan LC₅₀

Fraksi MeOH, n-heksana dan fraksi EtOAc ekstrak kulit batang *Sandoricum koetjape* Merr dilakukan uji toksisitasnya sebagai skrining awal adanya aktifitas sitotoksik dengan menggunakan metoda uji *Brine Shrimps*. Dari data maka didapatkanlah nilai dari LC₅₀ tiap tiap fraksi, dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. LC₅₀ dari fraksi n-heksan, EtOAc, dan MeOH

No.	Sampel uji	LC ₅₀ (µg/ml)
1	Fraksi MeOH	4663.33
2	Fraksi n-heksana	327.44
3	Fraksi EtOAc	179.43

Dari hasil perhitungan nilai LC_{50} diketahui bahwa, ketiga fraksi yang diujikan yaitu fraksi MeOH, n-heksan dan EtOAc. Hanya fraksi EtOAc dan n-heksan yang memberikan respon yang aktif terhadap uji ini dengan nilai LC_{50} yaitu 179.43 $\mu\text{g/ml}$ dan 327.44 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan literatur diketahui bahwa secara umum ekstrak tumbuhan yang memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ termasuk aktif biologis dan farmakologis. Kedua fraksi ini bersifat toksik karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ ^{7,8}. Fraksi yang paling aktif sebagai sitotoksik dalam pengujian ini adalah fraksi EtOAc (etil asetat) dengan nilai $LC_{50} = 179.43$ $\mu\text{g/ml}$.

III. Kesimpulan

Fraksi etil asetat dari kulit batang *Sandoricum koetjape* Merr memiliki respon yang paling aktif terhadap aktifitas sitotoksik dibandingkan dengan fraksi metanol (CH_3OH) dan fraksi n-heksan (C_6H_{14}).

Dari data spektrokopi UV dengan serapan max 150 nm, IR, memperlihatkan adanya gugus OH, C-H alifatis, gugus C=O keton, dan gugus geminal dimetil. Titik leleh senyawa yang didapatkan yaitu 252,4 – 253,6 °C dan uji Liebermann-Burchard yang memberikan warna merah dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk ke dalam senyawa golongan triterpenoid.

V. Ucapan terima kasih

Melalui ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Analis Laboratorium Pengukuran Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Dewi, Intan R, **2007**, Prospek insektisida yang berasal dari tumbuhan untuk menanggulangi organism pengganggu tanaman, *Universitas Padjadjaran Bandung, Program Pasca Sarjana*.
2. Gonzales.T.L, Palad J.G, Maniqis P.L, **1963**, *The Philipines Journal of Science*, 92 (4) 431.
3. Pancaroen, Alchalle, Pipatana, and Patikam, **2009**, Two New Limonoids From the leaves of sandoricum Koetjape. *Natural Product Research*. Vol. 23, 10-16
4. Efdi, M., dan Suryani, E., **2012**. Sentulic Acid:A Cytotoxic ring A-seco Triterpenoid from Sandoricum koetjape Merr. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. Gifu University. Japan.
5. Sastrohamidjojo, dan Hardjono, **1992**, *Spektroskopi Infra Merah*, FMIPA, UGM, Edisi I, Liberty, Yogyakarta
6. Silverstein, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C., **1981**, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 4th Ed., *John Wiley and Sons*.
7. Heru, P., **2009**. Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba Bandotan terhadap Sel Kanker Payudara dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta*.
8. Kurniawan, K., **2007**. Isolasi Steroid dari Daun Sirsak pada Fraksi Aktif Etil Asetat Terhadap Uji Bioaktifitas "Brine Shrimps Lethality Bioassay). *Skripsi S1 UNAND*. Padang.

UJI ANTIOKSIDAN DAN ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa* L)

Meri Mulyani, Bustanul Arifin, Hazli Nurdin

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: nurdinhazli@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The isolation and antioxidant test have been carried out from *Annona squamosa* L leaves. The antioxidant test was carried by using the method of DPPH radical scavenging. The secondary metabolite was isolated by maceration and flash chromatography. The antioxidant test of acetone and ether extracts gave inhibition value of 41.7 and 12.1 % respectively. The secondary metabolite isolated melting at 143.7-144.6 °C. The pure secondary metabolite isolated gave brownish red color with Liebermann-Burchard reagent this informed that compound is triterpenoid. The UV-Vis spectrum showed the compound absorbed at λ_{\max} 205.6 nm. While IR spectrum showed the presence of -OH, C-O alcohol, C-H, C=C, and specific absorption gem-dimethyl group. This compound showed 5.9 % of inhibition.

Keywords: *Annona squamosa* L, antioxidant, secondary metabolite

I. Pendahuluan

Tumbuhan merupakan tempat terjadinya sintesis senyawa organik yang kompleks menghasilkan sederet golongan senyawa dengan berbagai macam struktur. Usaha mengisolasi senyawa baru terhadap tumbuhan yang belum banyak diteliti akan lebih menarik dan prospektif karena kemungkinan lebih besar menemukan senyawa baru.^[1]

Mengingat semakin banyaknya kebutuhan terhadap obat-obatan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, sekarang ini tidak hanya dilakukan identifikasi terhadap kandungan senyawa-senyawa tertentu dalam tumbuhan tertentu, tetapi juga dilakukan pengujian terhadap aktivitas senyawa-senyawa tersebut. Selain itu, juga dilakukan untuk mengisolasinya menjadi senyawa murni untuk dimanfaatkan lebih lanjut. Penelitian ke arah tersebut perlu ditingkatkan untuk memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai komponen aktif yang dikandung oleh tumbuhan dan penjelasan terhadap pengaruh fisiologisnya.

Sampai saat ini, semakin banyak data yang dikumpulkan bahwa tumbuhan merupakan salah satu sumber senyawa kimia baru yang penting dalam pengobatan. Ini ditunjang semakin berkembangnya metode analisis kimia tumbuhan yaitu suatu metode yang merupakan bidang kajian ilmu fitokimia.^[2]

Penggunaan tumbuhan obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit telah lama dilakukan manusia. Sampai saat ini masih banyak potensi tumbuhan obat yang belum diteliti. Hal ini mendorong para ahli untuk melakukan penelitian tentang isolasi, sintesis, uji bioaktivitas dan pemanfaatannya lebih lanjut.^[3]

Buah srikaya bila telah matang, kulit buah mengilap dan sisiknya merenggang. Daging buah berwarna putih dan mempunyai kandungan zat gizi dan fitonutrien buah srikaya diantaranya yaitu provitamin A, Vitamin B1, Vitamin B2, Vitamin C, Mineral besi, Potasium/kalium, Kalsium, fosfor, dan serat.^[3]

Dari penelusuran literatur, daun srikaya mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan steroid/triterpenoid. Ekstrak daun srikaya mampu membunuh *Ascaridia galli*, mempunyai efek antifertilitas dan embriotoksik pada tikus betina, serta berpengaruh pada daya reproduksi *Sitophilus orizae*. Ekstrak daun srikaya berefek sebagai antifertilitas dan embriotoksik terhadap janin apabila diberikan pada masa mulai kebuntingan sampai selesainya masa organogenesis, tetapi tidak akan menimbulkan cacat bentuk luar janin (cacat makroskopis).^[4]

Berdasarkan pengujian tersebut serta kandungan senyawa aktif yang terkandung pada tanaman tersebut, maka penelitian ini difokuskan untuk mengisolasi salah satu metabolit sekunder yang terkandung pada daun tanaman srikaya serta menguji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak daun srikaya dengan menggunakan metoda penangkap radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia

Pelarut organik yang digunakan yaitu aseton ($\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$) teknis, n-heksana (C_6H_{14}) yang didistilasi dan dietil eter ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$) p.a keluaran Merck. Untuk uji fitokimia digunakan metanol (CH_3OH), kloroform (CHCl_3), pereaksi Meyer (raksa (II) klorida (HgCl_2), Kalium Iodida (KI)), akuades (H_2O), besi (III) klorida (FeCl_3), asam sulfat (H_2SO_4), anhidrida asetat ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$), ammonia (NH_4OH), pereaksi sianidin (asam klorida pekat (HCl), bubuk magnesium (Mg)), asam sulfat pekat ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{p}$), dan natrium hidroksida (NaOH). Adsorben yang dipakai pada proses kromatografi kolom adalah silika gel 60 (0,063-0,200 mm) keluaran Merck. Untuk zat penarik air digunakan natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4 anhidrat). Untuk uji antioksidan digunakan 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

2.2 Alat

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, Rotary evaporator

(Heidolph WB 2000), oven (Fisher Scientific Isotemp[®], Oven, lampu UV ($\lambda = 254$ nm dan 366 nm), spektrofotometer UV-Vis (Secoman S1000 PC), FTIR (Perkin Elmer 1600 series), alat penentuan titik leleh Fischer- Johns, kromatografi kolom flash, shaker, corong pisah, blender, plat kromatografi lapisan tipis (KLT), pipa kapiler, dan peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

2.3 Prosedur penelitian

2.3.1 Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian ini diperoleh di Kecamatan Pauh, Padang, Sumatera Barat. Daun segar srikaya dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender, kemudian ditimbang sebanyak 1,5 kg.

2.3.2 Pembuatan larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

Ditimbang sebanyak 2 mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan dilarutkan dengan metanol didalam labu ukur sampai 100 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 51 μM .

2.3.3 Uji fitokimia

Sampel sebanyak 2 gram dipotong halus dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol yang telah dipanaskan (di atas penangas air) selama 15 menit. Kemudian disaring panas-panas ke dalam tabung reaksi lain dan biarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu ditambahkan kloroform dan akuades dengan perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, kemudian pindahkan ke dalam tabung reaksi, biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid. Lapisan air digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin.

1. Pemeriksaan Flavonoid (Sianidin Tes)

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan

beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (kecuali untuk flavon).

2. Pemeriksaan Fenolik

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian tambahkan pereaksi besi (III) klorida, terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya senyawa fenolik.

3. Pemeriksaan Saponin

Dari lapisan air, kocok kuat-kuat dalam sebuah tabung reaksi, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes asam klorida pekat menunjukkan adanya saponin.

4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (Liebermann-Burchard)

Dari lapisan kloroform diambil sedikit dan dimasukkan ke dalam dua lubang plat tetes, biarkan hingga kering. Ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan asam sulfat pekat, ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuknya warna merah atau merah ungu menandakan adanya triterpenoid.

5. Pemeriksaan Alkaloid.

Sampel sebanyak 2 - 4 gram dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dalam lumpang dengan penambahan sedikit pasir dan 10 mL kloroform-amoniak 0,05N, kemudian diaduk dan digerus perlahan. Larutan disaring dengan corong kecil, di dalamnya diletakkan kapas sebagai penyaring dan hasil saringan dimasukkan ke dalam sebuah tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 tetes asam sulfat 2N dan kocok secara perlahan. Biarkan sejenak sampai terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam diambil dengan bantuan pipet dan dipindahkan ke dalam sebuah tabung reaksi kecil. Kemudian tambahkan pereaksi Meyer, reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih (+4), kabut putih tebal (+3), kabut putih tipis (+2), kabut putih sangat tipis (+1).

6. Pemeriksaan Kumarin

Sampel sebanyak 2-5 gram dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Kemudian dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etil asetat 100 %. Noda yang dihasilkan dimonitor di bawah lampu UV (365 nm). Hasil KLT kemudian disemprot dengan larutan natrium hidroksida 1% dalam etanol : air (1:1) dan selanjutnya dilihat dibawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan larutan natrium hidroksida 1% menandakan adanya senyawa kumarin.

2.3.4 Ekstraksi

Daun srikaya dibersihkan, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender, lalu ditimbang sebanyak 1,5 kg. Zat warna dari sampel tersebut di ekstraksi dengan pelarut aseton, dengan metode maserasi, perendaman dilakukan selama lebih kurang 6 jam, kemudian disaring melalui kertas saring. Residu direndam lagi beberapa kali dengan aseton, sampai filtrat menjadi tak berwarna, lalu uapkan asetonnya hingga diperoleh 600 ml ekstrak kental. Terhadap ekstrak kental dilakukan uji fitokimia dan uji antioksidan.

2.3.5 Saponifikasi dan Fraksinasi

Untuk menghilangkan lipid-lipid dan klorofil yang mungkin mengganggu, maka terhadap ekstrak zat warna ini dilakukan reaksi saponifikasi 20% KOH didalam metanol. Sebanyak 300 mL ekstrak kental aseton disaponifikasi dengan 300 mL larutan saponifikasi (1:1). Setelah itu diaduk pelan dengan menggunakan alat *shaker* dengan kecepatan 120 rpm, kemudian campuran dibiarkan dalam keadaan gelap pada temperatur kamar lebih kurang selama 24 jam.

Pigmen difraksinasi dengan eter dan penambahan akuades didalam corong pisah. Lapisan eter dicuci dengan akuades hingga terbebas dari sisa alkali, kemudian dikeringkan dengan Natrium sulfat anhidrat dan pelarut diuapkan dengan

menggunakan *rotary evaporator*. Diperoleh ekstrak eter berwarna merah.

2.3.6 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan
 Penentuan absorbansi dari larutan DPPH dilakukan dengan dipipet 3,8 mL larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 51 µM dan ditambahkan 0,2 mL metanol. Setelah dibiarkan 30 menit ditempat gelap, diukur serapannya alat dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, absorbansi yang diperoleh digunakan sebagai kontrol.

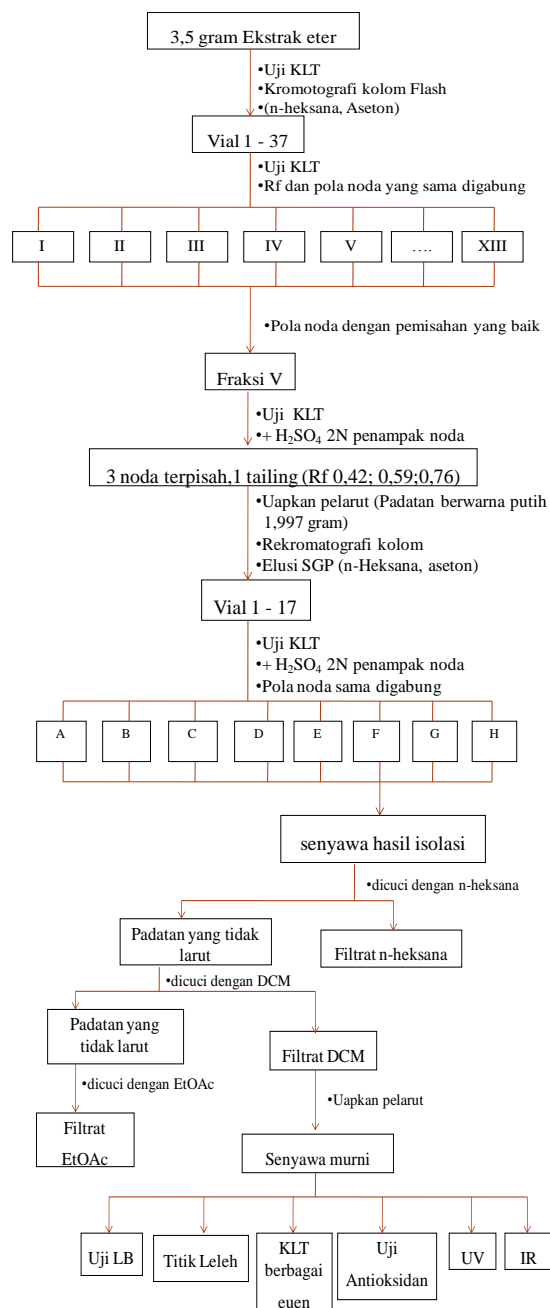
Pemeriksaan aktivitas antioksidan, dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 50 mg dan larutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi sampel 1 mg/mL atau 1000 ppm. Kemudian untuk penentuan aktivitas antioksidan dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan masukkan kedalam botol vial, kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 51 µM. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, absorbansi digunakan sebagai absorbansi sampel.

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal bebas melalui perhitungan persentase inhibisi serapan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

2.3.7 Pemisahan dan Pemurnian Ekstrak Eter
 Ekstrak eter yang dikromatografi kolom flash ditimbang sebanyak 3,5 gram dan dicampur dengan silika gel perbandingan 1:1 dan digerus dengan lumpang sampai terbentuk bubuk (prekolom). Kemudian dimasukkan secara hati-hati kedalam kolom yang telah disiapkan, diusahakan agar sampel bubuk tidak mengenai dinding kolom. Sebelum dilakukan pengelusian, hasil ekstrak dilakukan uji KLT untuk melihat sistem apakah yang akan dipakai untuk mengelusi sampel, baik itu isokratik maupun SGP (*Step Gradient Polarity*). Hasil

KLT menunjukkan tidak adanya pemisahan yang baik pada sampel, maka dilanjutkan pengelusian menggunakan n-heksana dan aseton dengan peningkatan kepolaran pelarut.



Gambar 1. Pemisahan dan pemurnian ekstrak eter.

Pengelusian dilakukan secara bergradient dimulai dari 100% pelarut n-heksana hingga 100% aseton. Kemudian fraksi-fraksi yang keluar ditampung kedalam vial 150 mL

yang kemudian dianalisa pola nodanya dengan KLT. Fraksi yang memiliki noda dan nilai R_f (*retention factor*) yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih sederhana. Selanjutnya, semua fraksi yang telah didapatkan pada kromatografi kolom ini diperiksa senyawa metabolit sekundernya dan dilihat juga pola pemisahan komponennya pada plat KLT.

Fraksi yang mempunyai pemisahan yang cukup baik kemudian dimurnikan dengan menggunakan metode rekromatografi kolom dan rekristalisasi. Skema kerja pemisahan dan pemurnian ekstrak eter dapat dilihat pada Gambar 1.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Fitokimia

Daun Srikaya (*Annona Squamosa* L) dilakukan uji fitokimia terhadap senyawa metabolit sekunder. Hasil fitokimia dari daun srikaya dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil uji pendahuluan profil fitokimia dari daun srikaya.

No	Metabolit sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
1	Flavonoid	Shianidin test	Larutan jingga-merah	✓
2	Fenolik	Besi (III) klorida	Warna biru	✓
3	Saponin	Akuades	Timbul busa	✓
4	Triterpenoid	Liebermann-Burchard	Larutan merah ungu	✓
5	Steroid	Liebermann-Burchard	Larutan hijau biru	✓
6	Alkaloid	Meyer	Terbentuk endapan putih	✓
7	Kumarin	Natrium hidroksida 1 % + Fluoresensi UV	Berfluoresensi terang	✓

Keterangan : ✓ : mengandung senyawa metabolit sekunder.

Dari data diatas dapat diketahui bahwa daun *Annona squamosa* L mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, steroid, alkaloid, dan kumarin.

3.2 Uji Antioksidan

Pada pengujian awal uji antioksidan ini ditentukan terlebih dulu panjang gelombang maksimum DPPH. Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang DPPH λ_{maks} adalah 517 nm. Panjang

gelombang ini digunakan untuk pengukuran absorban larutan sampel.

Dari 3,8 mL DPPH 51 μ M yang ditambahkan dalam 0,2 mL metanol digunakan sebagai kontrol didapatkan absorban sebesar 0,520. Absorban dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran absorban dan % inhibisi ekstrak aseton dan ekstrak eter dengan metode penangkapan radikal DPPH.

No	Sampel	%inhibisi
1	Ekstrak Aseton	41,73
2	Ekstrak Eter	12,11

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa ekstrak aseton memiliki persen inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak eter. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak aseton memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan dengan ekstrak eter. Karena aseton melarutkan senyawa-senyawa baik dari yang polar sampai yang kurang polar, sehingga senyawa-senyawa yang aktif antioksidan banyak terekstrak pada pelarut ini. Sedangkan dietil eter hanya mengekstrak senyawa-senyawa yang bersifat non polar saja.

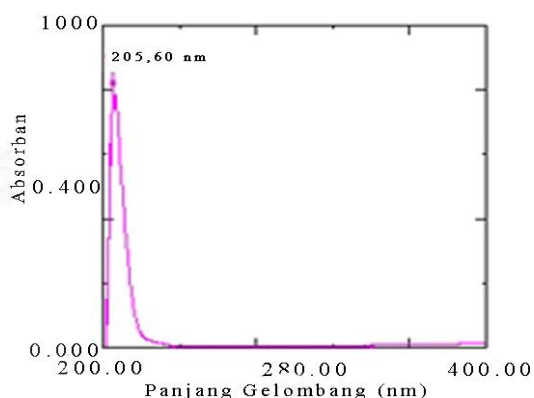
3.3 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

3.3.1 Pengukuran titik leleh dan Uji Liebermann - Burchard

Titik leleh dari senyawa ini adalah 143,7-144,6 °C. Berdasarkan rentang titik leleh yang cukup pendek dapat diindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni. Pengujian menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan warna merah kecoklatan yang menunjukkan senyawa ini golongan triterpenoid.

3.3.2 Spektroskopi Ultraviolet (UV)

Spektrum UV yang dihasilkan oleh senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 205,60 nm yang dapat dilihat pada Gambar 2.



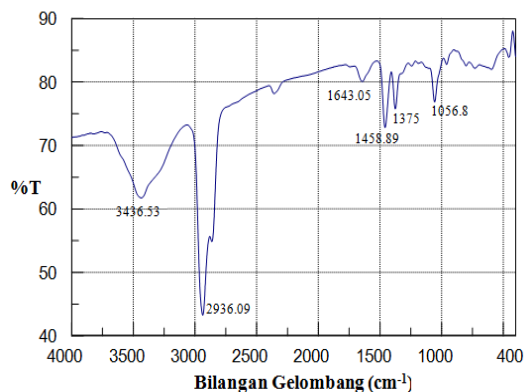
Gambar 2. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol.

Berdasarkan penjelasan sebelumnya dan pita serapan maksimum yang diperoleh dari spektrum UV, yaitu pada λ 205,60 nm menunjukkan tidak adanya ikatan rangkap berkonjugasi yang terdapat pada senyawa hasil pemurnian.

Umumnya senyawa yang mempunyai transisi $\sigma - \sigma^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 150 nm, senyawa yang mempunyai transisi $\pi - \pi^*$ (tidak berkonjugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 190 nm, sedangkan senyawa yang mempunyai transisi $n - \pi^*$ mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 300 nm.^[5]

3.3.3 Spektrum IR

Berdasarkan hasil pengukuran pada spektrum IR terdapat beberapa puncak dengan serapan penting yang terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum IR senyawa hasil isolasi.

Spektrum IR senyawa hasil isolasi memberikan informasi beberapa pita

serapan penting, yaitu adanya pita serapan OH alkohol pada angka gelombang 3436,53 cm^{-1} . Serapan C-O alkohol ditunjukkan pada angka gelombang 1300 - 1000 cm^{-1} yaitu 1056,8 cm^{-1} . Serapan gugus fungsi C=C muncul pada serapan 1643,05 cm^{-1} . Adanya CH_3 pada bilangan gelombang 2936,09 cm^{-1} yang didukung dengan adanya tekukan - CH_3 pada bilangan gelombang 1458,89 cm^{-1} .^{[6][7]}

Geminal dimetil yang merupakan serapan khas senyawa golongan triterpenoid ditunjukkan pada daerah 1375 cm^{-1} (\sim 1390 cm^{-1} dan \sim 1370 cm^{-1}). Serapan oleh geminal dimetil biasanya pecah menjadi dua puncak dengan intensitas yang sama, tapi kedua puncak ini tidak selalu tampak pada semua spektra, yang umum dijumpai hanya satu puncak saja.^[7]

Berdasarkan data dari spektrum IR, senyawa hasil isolasi yang diperoleh memiliki beberapa gugus fungsi terpenting yaitu -OH, C - O alkohol, C=C, CH_3 , dan geminal dimetil yang merupakan gugus-gugus fungsi penyusun senyawa triterpenoid.

IV. Kesimpulan

Dari uji fitokimia diketahui daun srikaya mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, alkaloid, dan kumarin. Pada uji antioksidan nilai inhibisi terbesar terdapat pada ekstrak aseton yaitu 41,73% yang menandakan bahwa ekstrak aseton memiliki aktivitas antioksidan yang besar. Pada senyawa hasil isolasi didapatkan nilai inhibisi yaitu 5,96% yang menandakan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas antioksidan yang kecil.

Senyawa hasil isolasi mempunyai titik leleh 143,7-144,6°C. Spektroskopi ultraviolet memberikan serapan pada λ_{max} 205,60 nm diketahui senyawa hasil pemurnian tidak mempunyai ikatan rangkap yang berkonjugasi dan spektroskopi inframerah menunjukkan adanya gugus fungsi -OH, C=C, CH_3 , C-O alkohol dan geminal dimetil.

V. Ucapan terima kasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada Analis dan seluruh Staf Laboratorium Jurusan Kimia atas dukungan dan bantuannya untuk kelancaran penelitian ini.

Referensi

1. Boer, H., **1997**. Isolasi Karoten dari Bayam (*Amaranthus hybridus ver paniculatus (L.) Thell*), *Universitas Andalas*.
2. Ahmad, S. A., **2003**. Kimia Bahan Alam Pelestarian dan Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Kajian Sumber Daya Alam dan Pelestarian Hutan, *Universitas Andalas*.
3. Ferlin, W., Komar, R., dan Siti, K., **2007**. Telaah Fitokimia Daun Srikaya (*Annona squamosa L.*) yang Berasal dari Dua Lokasi Tumbuh, *Fakultas Farmasi ITB*, Bandung.
4. Wagner, R. H. M., and Ferstl. W., **1980**. New Drugs with Cardiotonic Activity I Chemistry and Pharmacology of the Cardiotonic Active Principle of *Annona squamosa L*, *Planta Med*, 40, 77-85.
5. Giwangkara, E. G., **2006**. Aplikasi logika syaraf Fuzzy pada analisis sidik jari minyak bumi menggunakan spektrofotometer inframerah-transformasi fourier FT-IR. *Sekolah Tinggi Energi dan Mineral*, Cepu-Jawa Tengah.
6. Silverstein, R. M., **1981**. Spectrometric indentification of organic compounds 4th Ed., *John Wiley and Sons*, 136-140, 306-311.
7. Sastrohamidjojo, H., **1992**. *Spektroskopi Infra Merah*, FMIPA, UGM, Edisi I. Liberti : Yogyakarta. 56-58.

DEGRADASI SENYAWA SIPERMETRIN DALAM PESTISIDA RIPCORD 5 Ec SECARA OZONOLISIS DENGAN MENGGUNAKAN TiO_2 /ZEOLIT SEBAGAI KATALIS

Wilda Rahmi, Zilfa, dan Yulizar Yusuf

Laboratorium Kimia Analisis Terapan Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: zilfa_58@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

An investigation to study the degradation of cypermethrin in Ripcord 5 EC pesticide has been carried out by ozonolysis method. Cypermethrin is an active compounds in the group of pyrethroids and is found to be toxic not only for living things classified as invertebrate but also for human life. Cypermethrin in Ripcord 5 EC pesticide is commonly used to control insects. To prevent cypermethrin contamination, the degradation by ozonolysis method using TiO_2 /Zeolite is necessary. TiO_2 /Zeolite was synthesized by a reaction between TiO_2 and zeolite. Ozonolysis is one of many degradation methods for organic compounds by using ozone (O_3) that breaks the bond between C = C to produce the C = O bond. The results were measured by UV-Vis spectrophotometer at wavelength areas of UV (240-340 nm). The degradation of 10 mL cypermethrin (10 mg/L) by ozonolysis without addition of catalysts was 47 % after 60 minutes while it was 73 % when catalyzed by 20 mg of TiO_2 /Zeolite.

Keywords: ozonolysis, degradation, cypermethrin, TiO_2 /zeolite

I. Pendahuluan

Pestisida merupakan racun yang mempunyai nilai ekonomis terutama bagi petani. Pestisida memiliki kemampuan membasmi organisme selektif (target organisme), tetapi pada prakteknya pemakaian pestisida dapat menimbulkan bahaya pada organisme non target. Pestisida sintesis adalah pestisida yang terbuat dari zat - zat kimia yang rumit. Dari pestisida yang telah ada, insektisida merupakan golongan yang paling sering digunakan. Salah satu merek pestisida yang terdaftar adalah Ripcord 5 EC dengan bahan aktif sipermetrin 50 g/l. Sipermetrin merupakan racun kontak dan racun perut yang penggunaannya selain untuk pengendalian serangga juga untuk lahan pertanian. Penggunaan sipermetrin sangat populer karena efektifitasnya dan murah harganya.¹ Di Indonesia sipermetrin digunakan untuk pengendalian serangga

atau hama pemukiman seperti pembasmian nyamuk, lalat dan kecoa.²

Pengolahan limbah dengan cara konvensional telah dilakukan dengan cara klorinasi, pengendapan dan penyerapan karbon aktif, kemudian lumpur atau *sludge* yang terbentuk dibakar atau diproses secara mikrobiologi. Akan tetapi pengolahan limbah secara konvensional kurang efektif. Oleh karena itu, perlu dicari metode alternatif lain yang efektif untuk menguraikan limbah tersebut. Salah satunya adalah dengan mendegradasi dari limbah tersebut secara ozonolisis.

Ozonolisis merupakan suatu metoda degradasi senyawa organik dengan menggunakan ozon (O_3), dimana terjadi pemutusan antara C=C sehingga menghasilkan tingkatan rangkap C=O. Hasil dari degradasi ini tergantung pada jenis ikatan rangkap yang teroksidasi dan kondisi perlakuan. Dalam fasa air, ozon

dapat diuraikan oleh ion hidroksida (OH^-) atau basa konjugasi dari H_2O_2 (HO_2^-) menjadi radikal HO_2 dan OH^\cdot yang dapat membantu proses degradasi senyawa organik dalam pestisida.³

Untuk pendegradasian senyawa organik dalam pestisida diperlukan katalis untuk mempercepat jalannya proses degradasi. Pada saat ini banyak berkembang penggunaan $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ untuk mendegradasi senyawa organik dalam limbah cair.

$\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ merupakan reaksi pembentukan antara TiO_2 dan Zeolit. Penggunaan zeolit sebagai host disebabkan zeolit mempunyai struktur berpori sehingga dapat disusupkan TiO_2 ke dalamnya dan dapat memperluas permukaan katalis. Semakin luas permukaan katalis maka kemampuannya untuk menghasilkan radikal OH semakin banyak, sehingga degradasi terhadap senyawa yang digunakan semakin efektif. Beberapa keuntungan diharapkan dari pengembangan TiO_2 pada zeolit alam antara lain potensi zeolit alam yang melimpah di Indonesia serta stabilitas yang tinggi pada kondisi asam. Material TiO_2 tererman pada zeolit alam (selanjutnya disebut $\text{TiO}_2/\text{zeolit}$) memiliki fungsi ganda yaitu sebagai adsorben (dari sifat zeolit yang berpori dan memiliki kation yang dapat dipertukarkan) serta sebagai fotokatalis.

Berdasarkan hal diatas, maka dilakukan degradasi sipermetrin dalam pestisida pestisida Ripcord 5 EC secara ozonolisis dengan menggunakan $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ sebagai katalis.

II. Metodologi Penelitian

1.1 Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pestisida Ripcord 5EC (dengan bahan aktif sipermetrin), TiO_2 -anatase (Ishihara Sangyo, LTD Japan), Zeolit alam, Asetonitril (CH_3CN) 95% (Merck), AgNO_3 (Merck), NaCl , dan akuabides.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV/Vis (Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer), Reaktor ozon (Bioozone space age sterilizer, Natural Health Science Sdn.Bhd, Malaysia), Sentrifus (*Profuge 6K, Mini Centrifuge*, Korea), Kaca arloji, pipet gondok, pipet takar, labu ukur, petridish, neraca analitik, gelas piala, erlenmeyer dan peralatan gelas lainnya.

1.2 Prosedur Penelitian

1.2.1 Preparasi Katalis $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$

1.2.1.1 Preparasi Na-Zeolit

Zeolit alam diayak menggunakan pengayak berukuran 250 mesh. Kemudian dicuci dengan akuades, disaring, dan dikeringkan dalam oven. Sebanyak 25 mg zeolit ini kemudian dijenuhkan dengan NaCl sambil diaduk selama 24 jam, kemudian dicuci dengan akuabides. Setelah dicuci, pada filtrat ditambahkan AgNO_3 . Pencucian ini dilakukan berulang-ulang sampai tidak lagi didapatkan endapan putih pada filtrat setelah ditambahkan AgNO_3 .

1.2.1.2 Pilarisasi Zeolit

Na-Zeolit ditambahkan ke dalam akuabides dan diaduk dengan pengaduk magnet selama 5 jam. Na-Zeolit yang telah terdispersikan ke dalam akuabides dicampurkan dengan 1 mg TiO_2 -anatase. Hasil campuran dipisahkan dengan penyaring vakum kemudian dikeringkan dalam oven pada temperatur 110-120°C. Setelah kering, sampel digerus sampai halus kemudian diayak menggunakan pengayak 100 mesh. Hasil ayakan dikalsinasi pada temperatur 350°C selama 12 jam.

1.2.2 Penentuan Variasi Pelarut Asetonitril: Akuabides Terhadap Sipermetrin

Untuk menentukan perbandingan pelarut asetonitril : akuabides maka dibuat larutan sipermetrin 1000 mg/L dengan beberapa variasi campuran asetonitril : akuabides dengan perbandingan 0:10; 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; 8:2; 9:1; 10:0 dalam labu ukur 10 mL. Pilih Perbandingan yang menghasilkan larutan berwarna bening.

1.2.3 *Penentuan Spektrum Serapan dari Sipermetrin Beberapa Variasi Konsentrasi*

Dibuat sederetan variasi konsentrasi sipermetrin dengan mengencerkan larutan stok menjadi 5; 7,5; 10; 12,5 dan 15 mg/L dan dilarutkan dengan pelarut asetonitril : akuabides (6 : 4). Kemudian dilakukan pengukuran spektrum serapan terhadap lima variasi konsentrasi larutan tersebut dengan spektrofotometer UV-Vis.

1.2.4 *Pengaruh Waktu Ozonolisis Terhadap Degradasi Sipermetrin.*

Larutan sipermetrin 10 mg/L dimasukkan kedalam lima buah Erlenmeyer dengan volume masing-masing sebanyak 10 mL. Setelah itu, masing-masingnya diozonolisis dengan variasi waktu yaitu 0; 15; 30; 45; 60 dan 75 menit, dimana dilakukan degradasi dengan mengalirkan ozon ke dalam larutan. Hasil ozonolisis diukur dengan Spektrofotometer UV/Vis. Setelah itu dilakukan perhitungan persentase degradasinya.

1.2.5 *Pengaruh Penambahan Jumlah TiO₂/Zeolit Terhadap Degradasi Sipermetrin.*

Larutan sipermetrin 10 mg/L dimasukkan kedalam lima buah Erlenmeyer dengan volume masing-masing sebanyak 10 mL. Setelah itu, masing-masingnya ditambahkan TiO₂/Zeolit sebanyak 5, 10, 15, 20 dan 25 mg. larutan yang telah ditambah katalis di ozonolisis selama waktu optimum yang telah didapatkan sebelumnya yaitu 60 menit. Hasil ozonolisis disentrifus selama 15 menit untuk memisahkan filtrat dengan katalis. Filtratnya diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis. Setelah itu dilakukan perhitungan persentase degradasinya.

III. Hasil dan Pembahasan

1.3 *Hasil Penentuan Pelarut Asetonitril : akuabidest*

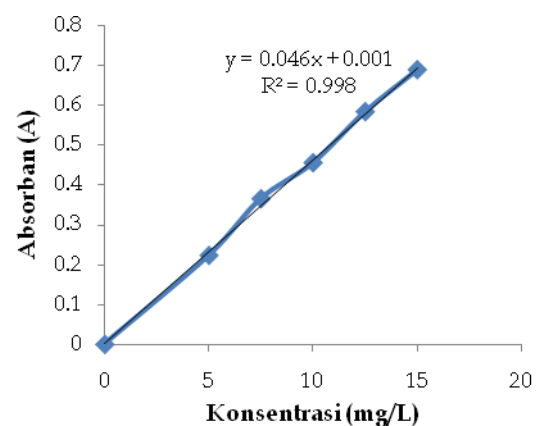
Tabel 1 memperlihatkan hasil pengamatan bahwa pada variasi pelarut 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:7 larutan pestisida yang diencerkan masih dalam keadaan keruh, pada variasi pelarut 5:5 mulai sedikit bening namun masih dalam keadan bening kekeruhan, sedangkan variasi pelarut 6:4, 7:3, 8:2, 9:1

dan 10:0 larutan pestisida dapat larut dan menghasilkan warna bening. Larutan bening ini, kemudian diukur absorbannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Untuk pengerjaan selanjutnya digunakan pelarut dengan perbandingan asetonitril : akuades 6:4.

Tabel 1. Perbandingan Variasi Pelarut

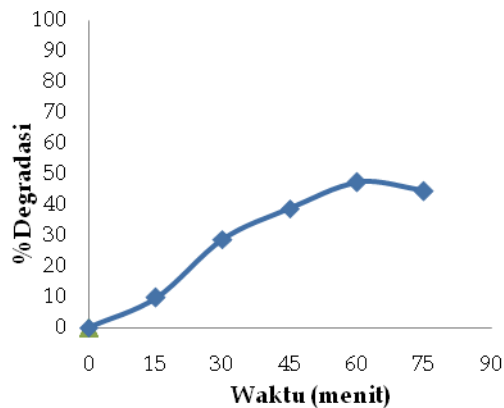
Asetonitril:Akuabidest	Keterangan
0 : 10	Keruh
1 : 9	Keruh
2 : 8	Keruh
3 : 7	Keruh
4 : 6	Keruh
5 : 5	Bening kekeruhan
6 : 4	Bening
7 : 3	Bening
8 : 2	Bening
9 : 1	Bening
10 : 0	Bening

3.2. *Kurva Kalibrasi Serapan Beberapa Variasi Konsentrasi Sipermetrin*



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar sipermetrin

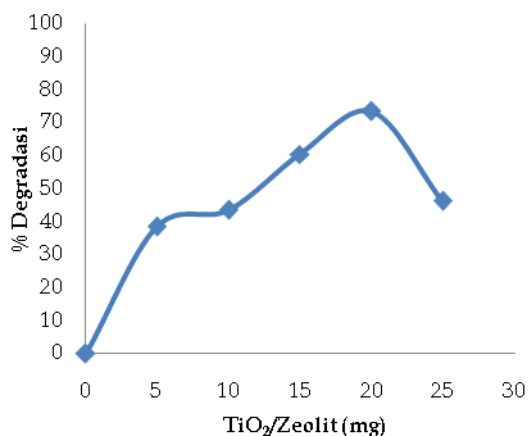
1.4 *Pengaruh Waktu Ozonolisis Tanpa Katalis*



Gambar 2. Pengaruh waktu ozonolisis terhadap persen degradasi 10 mL senyawa sipermetrin 10 mg/L.

Gambar 2 menunjukkan bahwa terjadinya kenaikan persen degradasi senyawa sipermetrin 10 mg/L dengan bertambahnya waktu ozonolisis, karena semakin lama waktu ozonolisis semakin banyak jumlah radikal $\cdot\text{OH}$ yang berperan dalam mendegradasi senyawa sipermetrin. Waktu yang paling optimum adalah pada 60 menit dengan persentase degradasi 47,33% karena dengan pertambahan waktu selanjutnya kenaikan persen degradasi tidak begitu signifikan.

1.1 Pengaruh Penambahan Jumlah Katalis $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ Terhadap Persen Degradasi Sipermetrin



Gambar 3. Pengaruh penambahan jumlah katalis $\text{TiO}_2/\text{zeolit}$ terhadap persen degradasi 10 mL senyawa sipermetrin 10 mg/L

Gambar 3 memperlihatkan bahwa jumlah optimum katalis $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ untuk degradasi 10 mL senyawa sipermetrin 10 mg/L adalah 20 mg dengan persen degradasi mencapai 73,43 % selama waktu ozonolisis. Hal ini merupakan kondisi yang paling optimum untuk penambahan $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$, karena pada penambahan selanjutnya 25 mg persentase didapatkan menurun, yaitu 46,22 %. Hal ini disebabkan terjadinya kejenuhan larutan yang membuat larutan menjadi keruh. Keadaan akan mempersulit dalam pemisahan larutan dari katalis yang mengakibatkan besarnya absorban.^{4 dan 5}

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ dapat digunakan sebagai katalis yang baik dalam proses degradasi sipermetrin secara ozonolisis. Degradasi sipermetrin 10 mg/L pada waktu 60 menit tanpa menggunakan katalis adalah 47,33%. Melalui penambahan variasi katalis $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$, didapatkan bahwa 20 mg katalis $\text{TiO}_2/\text{Zeolit}$ merupakan kondisi optimum dalam pendegradasian dengan persentase degradasinya sebesar 73,43%. Dalam hal ini dapat disimpulkan bahwa TiO_2 yang telah didukung oleh zeolit terbukti lebih efektif dalam membantu proses degradasi sipermetrin secara ozonolisis.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis dan staf Laboratorium Analisis Terapan Jurusan Kimia Universitas Andalas.

Referensi

1. Tyler, C., **2000**, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 801-809
2. Xu, X. W., Xian, S. H., and Da-hui, W., **2005**, Ozonation With Ultrasonic Enhancement of P-Nitrophenol Wastewater. *J. Zhejiang Univ Science B.5* : 319-323.
3. Fatimah I., dan Wijaya, K., **2005**, Sintesis TiO₂/Zeolit sebagai Fotokatalis pada Pengolahan Limbah Cair Industri Tapioka secara Adsorpsi-Fotodegradasi, *UGM, Yogyakarta*, 10(4), 257-267
4. Zilfa, Suryani, H, Safni dan Jamarun, N., **2011**, Penggunaan Zeolit sebagai Pendegradasi Senyawa Sipermetrin dengan Metode Fotolisis, *J. Natur Indonesia*, 14(1), 14-18.
5. Yeslia, U, Karna, W., Triyono, Eko, S., **2006**. Preparasi dan Karakterisasi TiO₂-Zeolit serta pengujiannya pada Degradasi Limbah Industri Tekstil secara Fotokatalitik. *Indo. J. Chem.* 6 (3). 231 - 237.

OPTIMIZATION OF PROTEASE ACTIVITY FROM LACTIC ACID BACTERIA (LAB) *Pediococcus pentosaceus* ISOLATED FROM SOURSOP FERMENTATION (*Annona muricata* L.)

Wilda Liona Suri^a, Sumaryati Syukur^a, Jamsari^b

^aLaboratorium Bioteknologi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^bLaboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas

e-mail: liona_wilda@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

This research was aimed to enhance the protease activity and to determine the partial purification of protease from lactic acid bacteria *Pediococcus pentosaceus*. Enzyme showed maximum activity at 50° C and pH 7 with casein as a substrate in 10 minutes incubation period. The result showed that the maximum activity of protease was found at 60-75% of ammonium sulphate precipitation. In temperature 50° C, the partial purification degree of protease is 2.135 times higher than crude protease. In pH 7, the partial purification degree of protease is 2.058 times higher than crude protease. In casein, the partial purification degree of protease is 1.797 times higher than crude protease. In 10 minutes incubation period, the partial purification degree of protease is 2.268 times higher than crude protease.

Keywords: protease activity, *Pediococcus pentosaceus*, ammonium sulphate precipitation.

I. Pendahuluan

Dewasa ini industri enzim telah berkembang pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. Kesadaran masyarakat terhadap masalah lingkungan yang semakin tinggi serta adanya tekanan dari para ahli dan pecinta lingkungan menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimiawi dalam bidang industri (Falch, 1991). Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi tinggi, bersifat spesifik, dan tidak beracun (Aunstrup, 1979).

Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease adalah enzim penting

yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena aplikasinya yang sangat luas. Industri pengguna protease di antaranya ialah industri deterjen, kulit, tekstil, makanan, hidrolisat protein, pengolahan susu, farmasi, makanan, bir, film, dan limbah (Moon dan Parulekar, 1993). Oleh karena itu, tidak mengherankan apabila protease yang digunakan mencapai 60% dari total enzim yang diperjualbelikan di seluruh dunia (Ward, 1985).

Kemajuan dalam bidang bioteknologi memungkinkan semakin meluasnya penggunaan enzim protease dalam berbagai produk komersial. Di Indonesia kebutuhan akan enzim protease juga semakin meningkat, namun kebutuhan ini masih bergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut perlu

adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Suhartono, 1989). Sumber enzim adalah organisme hidup: tanaman, hewan dan mikroba, karena fungsi enzim dari mikroba mempunyai kecenderungan lebih banyak dipakai saat ini disebabkan beberapa alasan antara lain adalah kemudahan pertumbuhan, produktivitas yang tinggi, sifat yang dapat diubah ke arah yang lebih menguntungkan dan berkembangnya pengetahuan mengenai teknik fermentasi, mutasi dan rekayasa genetik (Suhartono, 1989).

Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease dibatasi oleh tersedianya tanah untuk penanaman dan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan. Disamping itu proses produksi protease dari tumbuhan sangat memakan waktu. Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromelain, dan karelinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pepsin, dan rennin. Enzim ini dapat diperoleh dalam keadaan murni dengan jumlah besar (Boyer, 1971).

Enzim protease yang digunakan dalam bidang industri umumnya dihasilkan oleh mikroorganisme karena memiliki beberapa keunggulan. Adanya mikroorganisme yang unggul merupakan salah satu faktor penting dalam usaha produksi enzim. Oleh karena itu, penggalan mikroorganisme *indigenous* penghasil protease perlu dilakukan di Indonesia. Keragaman hayati yang tinggi memberikan peluang yang besar untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial untuk dikembangkan sebagai penghasil enzim. Mikroba yang telah dikembangkan secara komersial sebagai penghasil protease antara lain *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Aspergillus oryzae*, dan *Aspergillus niger*.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menguji aktivitas proteolitik protease intraseluler dan ekstraseluler dari beberapa

alamiah enzim adalah sebagai katalisator di dalam reaksi kehidupan. Walaupun demikian,

bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus licheniformis*, dan *Streptococcus thermophilus*. Epi Supriwardi (2011) telah melakukan isolasi dan karakterisasi molekular bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* hasil fermentasi sirsak dengan 16S rRNA yang tahan pada pH 2-8 dan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella sp.*

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi enzim protease dari *Pediococcus pentosaceus* hasil fermentasi sirsak yang memiliki aktivitas proteolitik tinggi yang ditinjau dari suhu optimum, pH optimum, substrat optimum, dan waktu inkubasi optimum.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan, dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pediococcus pentosaceus* yang telah diisolasi dari proses fermentasi sirsak oleh Epi Supriwardi (2011), MRS Agar (Merck), MRS Broth (Merck), *trichloro acetic acid* (TCA), buffer asetat, buffer fosfat, buffer borat, akuades, akuabides, tirosin, kasein, reagen Bradford, pereaksi folin fenol ciocalteau's, *bovine serum albumin* (BSA), susu skim, susu kedelai, susu cair *bear brand*, dan *ultramilk*.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas piala, jarum ose, pipet tetes, spatula, bunsen, pengaduk magnetik, pipet mikro, spektrofotometer UV-VIS (Thermo Spectronic Genesys 20), sentrifuse dingin (Hettich Zentrifugen Universal 320R), neraca analitik (KERN ABJ), inkubator (Gallenkamp), autoklaf (Certo Clav).

2.2. Prosedur penelitian

Peremajaan Kultur *Pediococcus pentosaceus*

Satu ose *Pediococcus pentosaceus* diinokulasikan secara zigzag ke dalam MRS agar. Waktu inkubasi selama 48 jam pada suhu 37° C dalam kondisi anaerob.

Analisa Kualitatif Enzim Protease

Satu ose *Pediococcus pentosaceus* ditanam ke dalam media susu skim. Diinkubasi pada suhu 37° C dan diamati zona bening yang terbentuk pada 48 jam.

Penentuan Aktivitas Enzim Protease

Aktivitas protease diukur secara kuantitatif dengan menggunakan metode Bergmeyer (1983) dengan substrat kasein Hammarsten 2% (b/v). Terdapat tiga perlakuan analisis yang dilakukan, yaitu blanko, standar, dan sampel. Larutan enzim ditambahkan ke dalam tabung yang berisi 1 mL buffer fosfat 0,05 M dengan variasi pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 9. Perlakuan pada blanko dan standar, enzim digantikan dengan akuades dan standar tirosin. Larutan diinkubasi pada variasi suhu 30° C, 40° C, 50° C, dan 60° C selama 10 menit. Reaksi hidrolisis dihentikan dengan penambahan 2 mL TCA 0,1 M. Pada blanko dan standar ditambahkan 0,2 mL larutan enzim, sedangkan pada sampel ditambahkan 0,2 mL akuades, kemudian larutan diinkubasi kembali pada suhu 37° C selama 10 menit, dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm dan suhu 4° C selama 10 menit. Supernatan sebanyak 1,5 mL ditambahkan ke dalam tabung berisi 5 mL Na₂CO₃ 0,4 M dan 1 mL pereaksi folin fenol ciocalteau's, lalu diinkubasi kembali pada suhu 37° C selama 20 menit. Absorban larutan diukur pada panjang gelombang 578 nm.

Pemurnian Parsial Ekstrak Kasar Protease

Ekstrak kasar enzim protease dimurnikan dengan cara pengendapan bertahap dengan cara pengendapan bertahap (NH₄)₂SO₄ dengan fraksi 0-30%, 30%-45%, 45%-60%, 60-75%, dan 75-90 %. Jumlah konsentrasi garam amonium sulfat yang ditambahkan pada masing-masing fraksi didasarkan pada tabel presipitasi amonium sulfat Scopes (1982).

Ekstraksi Enzim Protease Kasar

Sebanyak 1 ose *Pediococcus pentosaceus* dari MRS Agar ditanam ke dalam 10 mL MRS Broth. Kemudian diinkubasi secara anaerob selama 24 jam. Setelah diinkubasi, disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan merupakan ekstrak enzim kasar dan disimpan dalam lemari pendingin.

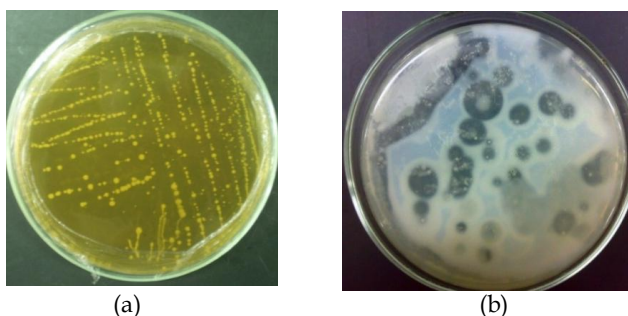
Penentuan Kadar Protein Enzim Protease

Kadar protein ditentukan dengan metode Bradford (1976). Sebanyak 0,1 mL larutan enzim ditambahkan ke dalam tabung yang berisi 5 mL pereaksi Bradford yang sudah diencerkan lima kali. Perlakuan pada blanko, larutan enzim diganti dengan akuades. Selanjutnya larutan tersebut dihomogenkan dan didiamkan selama 20 menit pada suhu ruang. Absorban larutan diukur pada panjang gelombang 595 nm. Standar protein yang digunakan adalah BSA. Pada kurva standar protein, larutan enzim digantikan dengan BSA dengan kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 mg/mL.

III. Hasil dan Pembahasan

Analisa Kualitatif Enzim Protease

Media yang digunakan untuk uji ini adalah media susu skim. Susu skim yang mengandung kasein ditambahkan ke dalam medium pertumbuhan bakteri sebagai substrat enzim. Dengan adanya enzim proteolitik ekstraselular bakteri, kasein akan terhidrolisis menjadi peptida dan asam-asam amino yang larut dalam medium. Hilangnya partikel kasein di dalam media susu skim ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening yang ditunjukkan oleh gambar 1 (b) merupakan indikator bahwa bakteri *Pediococcus pentosaceus* memiliki aktivitas proteolitik yang mampu merombak kasein dalam media susu skim.



Gambar 1. (a) Kultur bakteri *Pediococcus pentosaceus*, (b) Zona bening yang menunjukkan aktivitas hidrolitik enzim protease dari *Pediococcus pentosaceus* pada media susu skim.

Analisa Kuantitatif Enzim Protease

Pemurnian Parsial Enzim Protease dengan Presipitasi Amonium Sulfat

Prinsip presipitasi adalah penggumpalan protein non-enzim dengan penambahan garam. Ion garam yang ditambahkan memengaruhi kelarutan protein. Pada konsentrasi rendah, ion-ion ini akan mengelilingi molekul protein dan mencegah mereka bersatu sehingga protein melarut. Peristiwa ini disebut *salting in*. Pada konsentrasi tinggi, terjadi peningkatan muatan listrik di sekitar protein, yang akan menarik mantel air dari koloid protein. Peristiwa hidrofobik antarmolekul protein pada suasana ionik tinggi akan menurunkan kelarutan protein. Peristiwa tersebut dikenal dengan *salting out*.

Presipitasi ekstrak kasar enzim dengan garam amonium sulfat diuji pada berbagai konsentrasi kejenuhan amonium sulfat 0-90 % (b/v). Berdasarkan data hasil penelitian (Tabel 1), ekstrak kasar enzim memiliki nilai aktivitas sebesar 0,311 U/ml pada suhu optimum 50° C selama 10 menit atau aktivitas spesifik sebesar 0,542 U/mg. Fraksi presipitat memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap kemurnian enzim. Hal ini dapat dilihat setelah melalui pengendapan dengan amonium sulfat konsentrasi 60-75% (b/v), aktivitas meningkat menjadi 0,501 U/ml dengan aktivitas spesifik 1,157 U/mg atau 2,135 kali lebih murni dibandingkan ekstrak kasar.

Tabel 1. Pemurnian parsial enzim protease dengan ammonium sulfat pada konsentrasi optimum 60-75 %

Kondisi optimum	Aktivitas Enzim ekstrak kasar (U/mL)	Aktivitas Enzim presipitat (U/mL)	Aktivitas spesifik ekstrak kasar (U/mg)	Aktivitas spesifik presipitat (U/mg)	Tingkat kemurnian parsial enzim (kali)
Suhu 50° C	0,311	0,501	0,542	1,157	2,135
pH 7	0,304	0,472	0,529	1,090	2,058
Substrat kasein	0,295	0,400	0,514	0,924	1,797
Waktu inkubasi 10 menit	0,242	0,414	0,421	0,956	2,268

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa pemurnian parsial protease dengan penambahan amonium sulfat dapat meningkatkan aktivitas protease dibandingkan ekstrak kasarnya. Hal ini dikarenakan penambahan amonium sulfat berpengaruh terhadap protein yang terendapkan selama proses pemurnian. Ion-ion garam amonium sulfat akan berkompetisi dengan protein untuk menarik molekul air. Ion-ion garam memiliki kelarutan yang lebih besar dibandingkan protein sehingga ion garam akan menarik molekul air yang mensolvasi protein enzim. Protein enzim akan berinteraksi membentuk gumpalan dan mengendap.

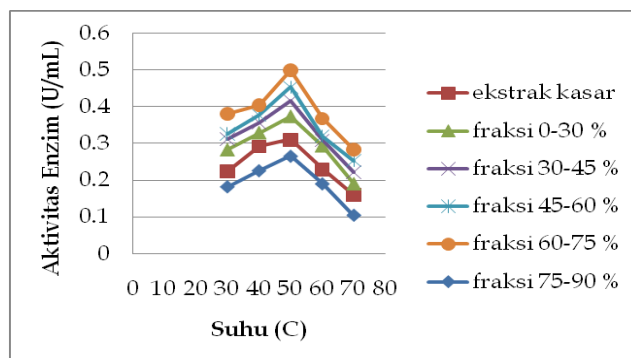
Ekstrak kasar mempunyai nilai aktivitas yang kecil karena ekstrak kasar masih banyak mengandung protein-protein non enzim yang dapat mengganggu aktivitas katalitik enzim. Pada fraksi 60-75% nilai aktivitas protease meningkat dikarenakan protein enzim lebih banyak yang terendapkan. Turunnya aktivitas pada fraksi 75-90% menunjukkan bahwa protein enzim protease yang terendapkan pada fraksi tersebut hanya dalam jumlah yang kecil karena protein enzim telah terendapkan pada fraksi sebelumnya. Akibatnya nilai aktivitas enzim kecil karena konsentrasi protein enzim yang rendah.

Peningkatan suhu sebelum tercapainya suhu optimum akan meningkatkan laju reaksi katalitik enzim karena meningkatnya energi kinetik molekul-molekul yang bereaksi. Sebaliknya, jika suhu dinaikkan sesudah suhu optimum kompleks enzim-substrat yang melampaui energi aktivasi terlalu besar, sehingga memecah ikatan sekunder pada konformasi enzim dan sisi aktifnya. Hal ini mengakibatkan enzim terdenaturasi dan kehilangan sifat katalitiknya.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa enzim protease dari berbagai sumber bakteri memiliki suhu dan pH optimum yang bervariasi. Aktivitas optimum enzim

Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Protease

Suhu merupakan salah satu faktor yang memengaruhi kerja enzim. Penentuan suhu optimum dilakukan dengan mereaksikan enzim pada pH 7. Variasi suhu yang digunakan adalah 30, 40, 50, dan 60° C. Gambar 2 menunjukkan bahwa suhu optimum enzim dari ekstrak kasar dan presipitat dicapai pada suhu 50° C, dengan nilai aktivitas berturut-turut sebesar 0.311 U/ml dan 0.501 U/ml pada konsentrasi amonium sulfat 60-75%.



Gambar 2. Kurva pengaruh suhu terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim dan presipitat.

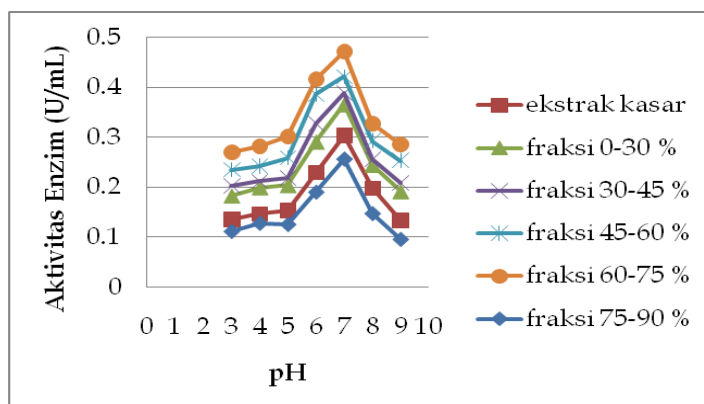
protease dari fraksi murni bakteri *Bacillus subtilis* dicapai pada pH 7 dan suhu 40 °C (El-Safey, 2004). Enzim protease dari bakteri *Bacillus cereus* strain CA15 bekerja optimum pada pH 8 dan suhu 35 °C (Uyar, 2011). Sedangkan protease dari bakteri *Bacillus subtilis* strain EFRL 01 mempunyai suhu optimum 45 °C dengan pH 8,5 (Qureshi, 2010).

Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Protease

Reaksi enzim dipengaruhi oleh pH. Peningkatan pH sebelum titik optimum menyebabkan terus-menerus meningkatnya aktivitas enzim, sampai seluruh tapak enzim

berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat. Sebaliknya peningkatan pH di atas batas optimum kerja enzim menyebabkan kerja enzim menurun, karena terjadi denaturasi enzim atau perubahan struktur tiga dimensi molekul

enzim. Denaturasi ini akan menyebabkan menurunnya fungsi katalitik enzim karena struktur enzim tidak sesuai lagi dengan molekul substrat (Girindra, 1993).



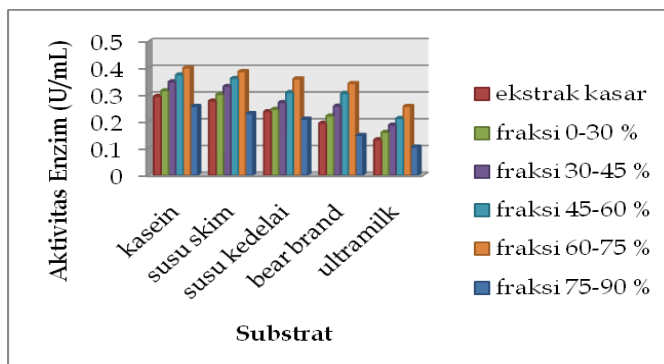
Gambar 3. Kurva pengaruh pH terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim dan presipitat.

Pada Gambar 3 diperlihatkan bahwa pada kondisi mendekati pH 7 (pH 4, 5, dan 6), aktivitas enzim kasar dan presipitat cenderung meningkat dan mencapai optimum pada pH 7 dengan nilai aktivitas sebesar 0,304 U/ml dan 0,472 U/ml pada konsentrasi amonium sulfat 60-75 %. Pada kondisi pH tersebut tapak aktif enzim sudah seluruhnya berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat.

Pengaruh Substrat terhadap Aktivitas Enzim Protease

Nilai aktivitas enzim protease tertinggi ditunjukkan pada substrat kasein, yang

diikuti oleh susu skim, susu kedelai, susu merek *bear brand*, dan *ultramilk*. Aktivitas enzim protease yang tinggi pada kasein disebabkan oleh kasein yang merupakan substrat murni. Kasein merupakan protein susu yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kalseinat. Perbedaan nilai aktivitas enzim yang tidak terlalu signifikan antara kasein dan susu skim disebabkan oleh terdapatnya kandungan kasein yang tinggi didalam susu skim.



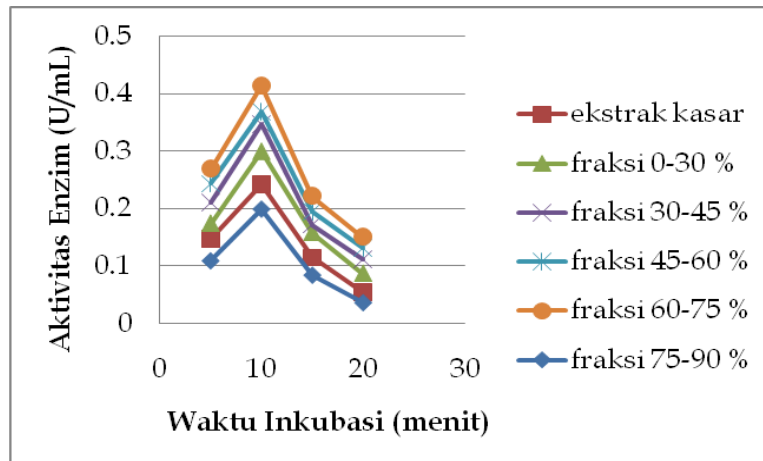
Gambar 4. Kurva pengaruh substrat terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim dan presipitat.

Penurunan nilai aktivitas enzim yang cukup signifikan pada susu kedelai, susu merk *bear brand* dan *ultramilk* disebabkan oleh perbedaan kandungan nutrisi pada sampel susu tersebut dibandingkan dengan kasein dan susu skim. Pada susu skim kandungan lemak pada susu telah dihilangkan, sehingga kandungan kaseinnya lebih tinggi dibandingkan dengan susu murni.

Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Protease

Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim protease bergantung pada reaksi hidrolisis substrat oleh enzim protease. Pada

penelitian ini didapatkan waktu inkubasi optimum adalah 10 menit. Jika waktu inkubasi dibawah waktu inkubasi optimum, maka reaksi hidrolisis substrat oleh enzim protease belum sempurna sehingga nilai aktivitas enzim yang didapat kecil. Sedangkan pada waktu inkubasi diatas waktu optimum dapat menurunkan perolehan produk hasil aktivitas enzim. Penyebabnya dapat diakibatkan oleh pengaruh lingkungan yang mengganggu proses enzimatik sehingga hasil hidrolisis enzim yang terbentuk menurun.



Gambar 5. Kurva pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim dan presipitat.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, enzim kasar dan presipitat enzim protease yang dihasilkan *Pediococcus pentosaceus* mempunyai aktivitas maksimum pada suhu 50°C, pH 7, dan waktu inkubasi 10 menit pada substrat kasein. Enzim protease yang dimurnikan pada fraksi pengendapan 60-75% mempunyai nilai aktivitas dan aktivitas spesifik maksimum. Nilai maksimum aktivitas enzim fraksi 60-75 % pada berbagai variasi antara lain : 0,501 U/ml (suhu 50° C), 0,472 U/ml (pH 7), 0,400 U/ml (substrat

kasein), dan 0,414 U/ml (waktu inkubasi 10 menit).

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menentukan bobot molekul enzim dan melanjutkan tahap pemurnian enzim dengan metoda dialisis dan kromatografi kolom Sephadex sehingga di dapat tingkat kemurnian enzim dan nilai aktivitas spesifik enzim protease yang tinggi. Disamping itu *Pediococcus pentosaceus* yang telah ditemukan ini hendaknya dapat dimanfaatkan sebagai agen probiotik untuk menunjang kesehatan masyarakat.

V. Ucapan terima kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Analis Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas.

Referensi

1. Aunstrup, K. **1979**. Production, Isolation, and Economic of Extracelullar Enzyme. *Appl. Biochem and Bioeng.* 2: 27.
2. Bergmeyer, H.U., Bergmeyer, J., and Grassl, M., **1983**. Methods of Enzimatic Analysis, Enzymes 3: *Peptidases, Proteinases and Their Inhibitors*. Volume 5. Weinheim: Verlag Chemie.
3. Bollag, D.M., Rozycki, M. D., and Edelstein, S. J., **1996**. *Protein Methods*. New York: Wiley-Liss, Inc.
4. Boominadhan, U., Rajakumar, R., Sivakumar, P.K.V., and Joe, M. M., **2009**, Optimization of Protease Enzyme Production Using *Bacillus sp* Isolated from Different Waste. *Botany Research International*. 2: 83-87.
5. Bradford, M. M. **1976**. A Rapid and Sensitive Method for Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principles of Protein Dye-Binding. *Anal. Biochem.* 72: 234 - 254.
6. Chantawannakul, P., Oncharoen, A., Klanbut, K., Chukeatirote, E., and Lumyong. S., **2002**, Characterization of Protease of *Bacillus subtilis* Strain 38 Isolated from Traditionally Fermented Soybeen in Norhten Thailand. *Science Asia*. 28: 241-245.
7. El-Safey, E.M., and Raouf, U.M.A., **2004**. Production, Purification, and Characterization of Protease Enzyme from *Bacillus subtilis*. *International Conferences for Development and the Environment in the Arab World*, Assiut Univ., March 23-25.
8. Falch, E.A. **1991**. Industrial Enzymes Developments in Production and Application. *Biotech. Adv.* 9: 643-658.
9. Girindra, A. **1993**. *Biokimia 1*. Jakarta: PT Gramedia Pusaka Utama. Hlm. 88-113.
10. Moon, S.H., and Parulekar, S. J., **1993**, Some Observation on Protease Producing in Continuous Suspension Cultures of *Bacillus firmus*. *Biotech. Bioeng.* 4: 43-54.
11. Naiola, E., dan Widyastuti, N., **2002**. Isolasi, Seleksi, dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Hayati*. 6 : 467-473.
12. Putranto, W.S. **2006**. Purifikasi dan Karakterisasi Protease yang Dihasilkan *Lactobacillus acidophilus* dalam Fermentasi Susu Sapi Perah. *Seminar Nasional Bioteknologi "Capturing Opportunities through Biotechnology"*, Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI.15-16 November.
13. Qureshi, A.S., Bhutto, M. A., Khushk, I., and Dahot, M. U., **2010**. Optimization of Cultural Conditions for Protease Production by *Bacillus subtilis* EFRL 01. *African Journal of Biotechnology*. 10: 5173-5181.
14. Scopes, R. K. **1987**. *Protein Purification: Principles and Practice*. Edisi Ke-2. New York: Springer-Verlag.
15. Suhartono, M. T. **1989**. *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
16. Syukur, S., dan Utami, D. A., **2011**. Karakterisasi Molekular Bakteri Asam Laktat (BAL) Probiotik dengan Gen 16S rRNA yang Berpotensi Menghasilkan Bakteriosin dari Fermentasi Sirsak (*Annona muricata L.*) di Sumatera Barat. *Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan (Semirata BKS-PTN B) FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat*. 9-10 Mei.
17. Uyar, F., Porsuk, I., Kizil, G., and Yilmaz, E.I., **2011**, Optimal Conditions for Production of Extracellular Protease from Newly Isolated *Bacillus cereus* Strain CA15. *EurAsian Journal of BioSciences*. 5: 1-9.
18. Ward, O.P. **1985**. *Proteolytic enzymes*. In: Young, M.M., *Comprehensive Biotechnology: The principles, Applications, and Regulations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine*. Volume 3. Oxford: Pergamon Press.

ANALISIS pH, BOD, COD, LOGAM (Pb, Cu, Cd, Fe, dan Zn) PADA DRAINASE FAKULTAS MIPA DAN FAKULTAS FARMASI UNAND

Ardhiko Amril, Refilda, Bustanul Arifin

Laboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: refilda_59@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Research has been performed on parameters of pH, BOD, COD, metals Pb, Cu, Cd, Fe, and Zn wastewater laboratory Faculty of Science and Faculty of Pharmacy, Andalas University, and to monitor the effect of the laboratory activities to the changes of these parameters. The method for parameters of pH used the potentiometric, BOD used the method of Winkler, while COD used iodometric, and for Pb, Cu, Cd, Fe, Zn metals used flame AAS method. The results of the analysis for pH ranged from 6.00 to 7.10, BOD contained was from 2.06 to 8.28 mg/L, COD contained was from 7.18 to 26.77 mg/L, Pb metal from 0.13 to 0.24 mg/L, Cu from 0.04 to 0.80 mg/L, Cd metal was undetectable, Fe 0.72 to 2.93 mg/L, Zn metal from 0.03 - 1.44 mg/L. The highest pH values were obtained in the laboratory of chemistry and pharmacy, while BOD in chemistry laboratory, COD in pharmaceutical laboratory, Pb, Cu, Zn metals in biological laboratory, and Fe metal in the chemical laboratory.

Keywords: *Laboratory drainage, pH, BOD, COD, Pb, Cu, Cd, Fe, Zn metals*

I. Pendahuluan

Peningkatan pendidikan seperti sekolah dan perguruan tinggi sangat berkembang saat ini, dimana pada sekolah mempunyai sarana dan prasarana penunjang seperti perpustakaan, gedung sekolah, dan laboratorium. Akan tetapi khusus untuk perguruan tinggi laboratorium merupakan sarana yang utama dan memegang peranan penting dalam peningkatan kualitas dan kuantitas pendidikan untuk mendukung jalannya praktikum dan penelitian bagi mahasiswa maupun bagi dosen.

Namun dengan adanya kegiatan praktikum dan penelitian yang menggunakan bahan-bahan kimia untuk melakukan sintesis maupun analisis, karena tujuan penggunaannya, maka terbentuklah bahan awal, produk samping, pelarut yang

digunakan dan bahan kimia yang terkontaminasi sehingga bahan tersebut harus diurai atau dibuang jika daur ulang tidak mungkin dilakukan.

Pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand terdapat adanya aktifitas praktikum yang rutin diadakan sejalan dengan perkuliahan, dengan adanya aktifitas praktikum tersebut menghasilkan limbah berupa sisa dari bahan kimia yang digunakan yang sebagian dibuang ke drainase melalui wastafel terutama saat pencucian. Adapun waktu kegiatan praktikum ini dilaksanakan adalah sekitar 1-2 bulan dalam setiap semesternya, sedangkan kegiatan dilaboratorium untuk penelitian dilaksanakan dalam jangka panjang yaitu sampai 6 bulan. Tetapi limbah yang dihasilkan tidak hanya berasal dari

laboratorium namun juga dari kafetaria yang keluar melalui saluran drainase.

Oleh karena itu, berdasarkan hal di atas peneliti tertarik menganalisis air limbah laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand, serta melihat pengaruh aktifitas praktikum terhadap pH, BOD, COD, logam Pb, Cu, Cd, Fe, dan Zn dalam air limbah laboratorium tersebut.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah Buffer standar pH (4, 7 dan 10), indikator kanji, natrium hidoksida (NaOH), asam sulfat (H_2SO_4), larutan natrium thiosulfat ($Na_2S_2O_3$), kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$), kalium iodida (KI), asam sulfat (H_2SO_4), bubuk merkuri sulfat ($HgSO_4$), kalium permanganat ($KMnO_4$), mangan sulfat ($MnSO_4$), alkali iodida azida (KOH-KI- NaN_3), air destilasi, HNO_3 pekat, standar logam (Pb, Cu, Cd, Fe, Zn) 1000 mg/L.

Peralatan yang digunakan adalah AAS-nyala (Varian AAS240), pH meter (Hach), timbangan analitik (XT 220A Precisa), thermometer, botol Winkler, pemanas listrik, dan peralatan gelas yang biasa digunakan dilaboratorium.

2.2 Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel untuk penelitian ini dilakukan pada 4 titik yaitu :

1. Drainase jalan laboratorium Kimia
2. Drainase laboratorium Kimia
3. Drainase laboratorium Farmasi
4. Drainase laboratorium Biologi

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1 Penentuan pH

pH meter dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4, dan 7. Kalibrasi pH meter dilakukan dengan cara menekan tombol *cal* pada alat pH meter, kemudian celupkan elektroda kedalam buffer pH 7 tunggu sampai terbaca nilai pH 7, lalu celupkan elektroda kedalam buffer pH 4, lalu selesai kalibrasi pH meter

siap digunakan untuk sampel, dimana elektroda dibilas dengan air destilasi. Dikeringkan dengan tisu. Elektroda dimasukkan kedalam sampel kemudian nilai pH dibaca pada alat

2.3.2 Penentuan BOD

Sampel dipipet sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 1 mL $MnSO_4$ 10% dan 1 mL alkali iodida azida, ditambahkan 1 mL H_2SO_4 pekat, dititrasi dengan natrium thiosulfat 0,025 N sampai warna kuning muda lalu ditambahkan indikator kanji 1%, titrasi sampai hilang warna biru, dicatat pemakaian natrium thiosulfat 0,025N. Ditentukan DO_0 hari dan DO_5 hari, dengan menghitung selisih nilai DO_0 hari dan DO_5 hari akan didapat nilai BOD

2.3.3 Penentuan COD

Sampel dipipet sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan $HgSO_4$ 0,1 g dan 5 mL $KMnO_4$ 0,1 N. Dipanaskan selama 1 jam kemudian didinginkan. Ditambahkan 5 mL KI 10% dan 10 mL H_2SO_4 4N dititrasi dengan larutan natrium thiosulfat 0,025 N sampai warna kuning muda lalu ditambahkan indikator kanji 1%, titrasi sampai hilang warna biru dan dicatat pemakaian natrium thiosulfat 0,025 N

2.3.4 Penentuan Logam Pb, Cu, Cd, Fe, Zn

Alat dioperasikan dan dioptimalkan sesuai petunjuk penggunaan alat untuk pengukuran masing-masing logam. Larutan blanko diaspirasikan kedalam SSA nyala kemudian diatur serapan hingga nol. larutan kerja diaspirasikan satu persatu kedalam SSA nyala lalu ukur serapannya pada panjang gelombang masing-masing logam, dicatat hasil pengukuran. Dilakukan pembilasan pada selang aspirator dengan larutan pengencer. Dibuat kurva kalibrasi dari data, ditentukan persamaan garis lurus nya.

III. Hasil dan Pembahasan

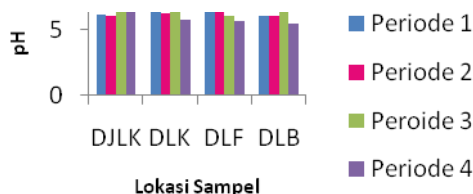
3.1 Penentuan pH

Hasil pengukuran nilai pH untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Tabel hasil analisis pH pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Lokasi	Hasil			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	6,11	6,00	6,50	6,30
DLK	7,10	6,20	6,80	6,10
DLF	7,10	6,49	6,00	6,01
DLB	6,01	6,00	6,40	6,50

Hasil pengukuran nilai pH untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva nilai pH drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 1 terlihat bahwa nilai pH dari keempat sampel berkisar antara 6,0 - 7,2. Sedangkan menurut peraturan pemerintah No. 82 Tahun 2001, nilai pH untuk kualitas air limbah yang baik adalah 6-9, dan hasil analisis pH pada drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi sesuai dengan standar.

Pada waktu sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria pada pengambilan sampel 1 nilai pH tertinggi terdapat pada drainase limbah laboratorium kimia dan drainase laboratorium farmasi, sedangkan nilai pH terendah pada drainase laboratorium kimia dan drainase laboratorium biologi, terjadinya perbedaan nilai pH pada empat lokasi ini disebabkan karena bahan pencemar yang masuk ke dalam outlet limbah sangat sedikit sehingga nilai pH relatif netral. Sedangkan pada waktu setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria pada

sampel 1, 2 dan 3 nilai pH menjadi turun untuk empat lokasi tersebut, adanya perbedaan pH di empat lokasi disebabkan karena tingkat aktifitas yang lebih banyak dilakukan pada laboratorium seperti praktikum dan penelitian serta kafetaria.

Dari kurva diatas terlihat bahwa dengan adanya aktifitas praktikum dan kafetaria terjadi penurunan pH, yang disebabkan diperkirakan adanya buangan bahan organik yang berasal dari aktifitas praktikum dan kafetaria, dan buangan bahan anorganik yang umumnya mengandung asam mineral dalam jumlah tinggi, sehingga pH menjadi turun.

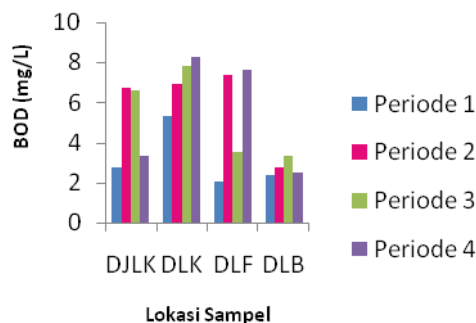
3.2 Penentuan BOD

Hasil pengukuran nilai kebutuhan oksigen biologi untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Tabel 2

Tabel 2. Tabel hasil analisis BOD pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Lokasi	Hasil (mg/L)			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	2,76	6,75	6,66	3,31
DLK	5,34	6,90	7,82	8,28
DLF	2,06	7,36	3,50	7,60
DLB	2,39	2,76	3,31	2,48

Hasil pengukuran nilai kebutuhan oksigen biologi untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva nilai BOD drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 2 terlihat bahwa nilai kebutuhan oksigen biologi sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria berkisar antara 2,0 - 5,3 mg/L, Namun setelah adanya aktifitas praktikum dan aktifitas kafetaria terjadi kenaikan nilai kebutuhan oksigen biologi yang berkisar antara 2,4- 8,2 mg/L. Sedangkan menurut peraturan pemerintah No. 82 Tahun 2001, nilai kebutuhan oksigen biologi untuk kualitas air limbah yang baik adalah 12 mg/L, dan hasil analisis kebutuhan oksigen biologi pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi sesuai dengan standar.

Pada waktu sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria nilai kebutuhan oksigen biologi tertinggi terdapat pada drainase limbah laboratorium kimia dan drainase laboratorium kimia, sedangkan nilai terendah kebutuhan oksigen biologi pada drainase laboratorium farmasi dan drainase laboratorium biologi, terjadinya perbedaan nilai kebutuhan oksigen biologi pada empat lokasi ini diperkirakan adanya buangan yang sangat sedikit pada air limbah masing-masing laboratorium sehingga nilai kebutuhan oksigen biologi pada masing-masing lokasi menjadi kecil. Sedangkan pada waktu setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria nilai kebutuhan oksigen biologi menjadi naik untuk empat lokasi tersebut, adanya perbedaan nilai kebutuhan oksigen biologi di empat lokasi disebabkan karena tingkat pencemar yang dibuang ke saluran limbah masing-masing laboratorium tersebut yang berasal dari aktifitas praktikum dan penelitian terutama bahan buangan organik.

Dari Gambar 2 diatas terlihat bahwa dengan adanya aktifitas praktikum terjadi kenaikan nilai kebutuhan oksigen biologi, adanya perbedaan laboratorium dan kafetaria hasil nilai kebutuhan oksigen biologi sebelum aktifitas dan setelah aktifitas ini diperkirakan adanya kandungan zat organik yang tinggi pada air limbah tersebut yang berasal dari aktifitas praktikum tersebut, sehingga cadangan oksigen menjadi berkurang karena

banyaknya bahan organik yang di degradasi oleh mikroorganisme, sehingga nilai kebutuhan oksigen bilologi menjadi meningkat. Dan juga diperkirakan adanya perkembangan mikroba air yang pesat, dan membutuhkan supply oksigen yang tinggi sehingga dapat menurunkan kandungan oksigen yang terlarutkan di dalam tubuh air.

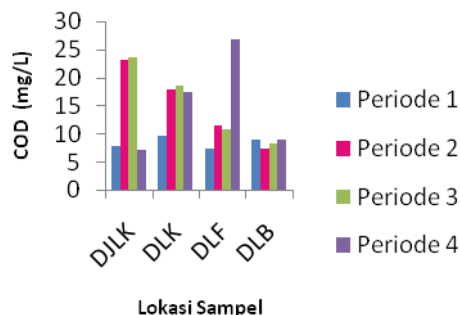
3.3 Penentuan COD

Hasil pengukuran nilai kebutuhan oksigen kimia untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Tabel hasil analisis COD pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Uinversitas Andalas

Lokasi	Hasil (mg/L)			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	7,89	23,09	23,63	7,18
DLK	9,64	17,85	18,44	17,35
DLF	7,43	11,46	10,86	26,77
DLB	8,91	7,27	8,13	8,92

Hasil pengukuran nilai kebutuhan oksigen kimia untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva nilai COD drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 3 terlihat bahwa nilai kebutuhan oksigen kimia sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria pada sampel 1 berkisar antara 7,4 - 9,6 mg/L, Namun setelah adanya aktifitas praktikum dan kafetaria pada sampel 2,3 dan 4 terjadi kenaikan nilai kebutuhan oksigen kimia

yang berkisar antara 7,1 - 26,7 mg/L. Sedangkan menurut peraturan pemerintah No. 82 Tahun 2001, nilai kebutuhan oksigen kimia untuk kualitas air limbah yang baik adalah 100 mg/L, dan hasil analisis kebutuhan oksigen kimia pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi sesuai dengan standar.

Pada waktu sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria pada sampel 1 nilai kebutuhan oksigen kimia tertinggi terdapat pada drainase limbah laboratorium kimia dan drainase laboratorium biologi, sedangkan nilai kebutuhan oksigen kimia terendah terdapat pada drainase laboratorium farmasi dan pada drainase laboratorium kimia, terjadinya perbedaan nilai kebutuhan oksigen biologi pada empat lokasi ini diperkirakan adanya buangan yang sangat sedikit pada air limbah masing-masing laboratorium sehingga nilai kebutuhan oksigen kimia pada masing-masing lokasi menjadi kecil. Sedangkan pada waktu setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria pada sampel 2, 3, dan 4 nilai kebutuhan oksigen kimia menjadi meningkat untuk empat lokasi tersebut, adanya perbedaan nilai kebutuhan oksigen biologi di empat lokasi diperkirakan adanya buangan zat-zat organik maupun anorganik yang dibuang ke saluran masing-masing limbah laboratorium dan kafetaria.

Adanya perbedaan nilai kebutuhan oksigen kimia yang cukup besar setelah aktifitas praktikum ini dibandingkan sebelum adanya aktifitas praktikum diperkirakan karena adanya kandungan-kandungan senyawa kimia yang terdapat pada masing-masing limbah tersebut, dimana limbah hasil dari aktifitas praktikum ini yang dibuang ke outlet kemungkinan mengandung mineral dan zat-zat organik yang terdiri dari sebagian besar terdiri dari nitrogen, karbohidrat, karbon, posfat, lemak, dan sabun.

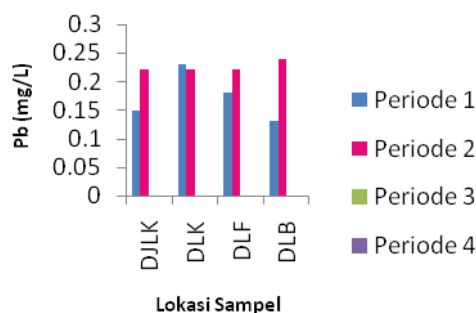
3.4 Penentuan Logam Pb

Hasil pengukuran konsentrasi logam Pb untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Tabel hasil analisis Logam Pb pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Lokasi	Hasil (mg/L)			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	0,15	0,22	Ttd	Ttd
DLK	0,23	0,22	Ttd	Ttd
DLF	0,18	0,22	Ttd	Ttd
DLB	0,13	0,24	Ttd	Ttd

Hasil pengukuran konsentrasi logam Pb untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva konsentrasi logam Pb pada drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 4 terlihat bahwa konsentrasi logam Pb sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria berkisar antara 0,13 - 0,23 mg/L, sedangkan setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria konsentrasi logam Pb berkisar antara 0,22 - 0,24 mg/L sementara pada sampel 3 dan 4 konsentrasi logam Pb menjadi tidak terdeteksi, ini diperkirakan hasil buangan dari kafetaria pada sampel 3 dan 4 tidak mengandung logam Pb. Sedangkan menurut peraturan pemerintah No. 82 Tahun 2001, konsentrasi logam Pb untuk kualitas air limbah yang baik adalah 1 mg/L, dan hasil analisis logam Pb pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi mempunyai kualitas baik.

Untuk logam Pb sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria mempunyai konsentrasi yang kecil. Namun, setelah adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria terjadi kenaikan konsentrasi logam Pb pada drainase laboratorium, hal ini disebabkan karena adanya buangan dari hasil aktifitas praktikum maupun kafetaria mengandung Pb, konsentrasi logam Pb tertinggi didapatkan pada drainase laboratorium biologi.

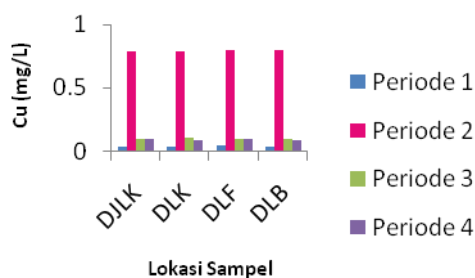
3.5 Penentuan Logam Cu

Hasil pengukuran konsentrasi logam Cu untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 5.

Tabel 5. Tabel hasil analisis Logam Cu pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Lokasi	Hasil (mg/L)			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	0,04	0,79	0,10	0,10
DLK	0,04	0,79	0,11	0,09
DLF	0,05	0,79	0,10	0,10
DLB	0,04	0,80	0,10	0,09

Hasil pengukuran konsentrasi logam Cu untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva konsentrasi logam Cu pada drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 4.1 konsentrasi logam Cu sebelum adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria 0,037 - 0,047 mg/ L, sedangkan setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria konsentrasi logam Cu berkisar antara 0,0940 - 0,7950 mg/L. Sedangkan menurut pemerintah No. 82 Tahun 2001, konsentrasi logam Cu untuk kualitas air limbah yang

baik adalah 0,2 mg/L, dan hasil analisis logam Cu pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi mempunyai kualitas sedang.

Untuk logam Cu sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria mempunyai konsentrasi yang kecil, Namun, setelah adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria terjadi kenaikan konsentrasi logam Cu pada drainase laboratorium, hal ini disebabkan karena adanya buangan dari hasil aktifitas praktikum maupun kafetaria mengandung Cu, untuk konsentrasi logam Cu tertinggi terdapat pada drainase laboratorium biologi.

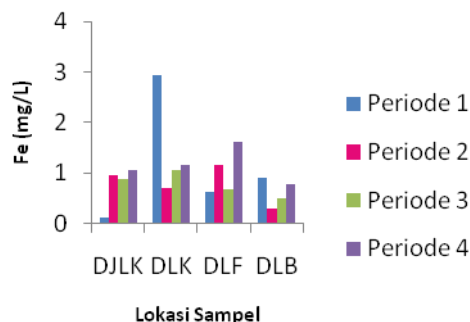
3.6 Penentuan Logam Fe

Hasil pengukuran konsentrasi logam Fe untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 6.

Tabel 6. Tabel hasil analisis Logam Fe pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Lokasi	Hasil (mg/L)			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	0,11	0,97	0,90	1,07
DLK	2,94	0,72	1,07	1,15
DLF	0,63	1,17	0,68	1,61
DLB	0,90	0,29	0,50	0,80

Hasil pengukuran konsentrasi logam Fe untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 6.



Gambar 6. Kurva konsentrasi logam Fe pada drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 4.2 untuk konsentrasi logam Fe sebelum adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria 0,1140 – 2,9350 mg/L, sedangkan setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria konsentrasi logam Fe berkisar antara 0,2920 – 1,1670 mg/L. Sedangkan menurut peraturan pemerintah No. 82 Tahun 2001, konsentrasi logam Fe untuk kualitas air limbah yang baik adalah 5 mg/L, dan hasil analisis logam Fe pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi mempunyai kualitas baik.

Sementara untuk logam Fe saat sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria konsentrasi yang didapat jauh lebih besar dibandingkan dengan setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria, dimana konsentrasi logam Fe terbesar sebelum aktifitas terdapat pada drainase limbah laboratorium kimia dan drainase laboratorium biologi, hal ini disebabkan adanya warna kuning yang terdapat pada air limbah sewaktu pengambilan sampel.

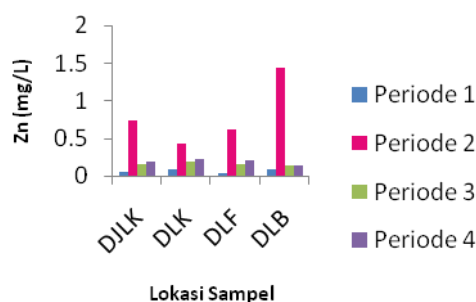
3.6 Penentuan Logam Zn

Hasil pengukuran konsentrasi logam Zn untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 7.

Tabel 7. Tabel hasil analisis Logam Zn pada drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Uinversitas Andalas

Lokasi	Hasil (mg/L)			
	Periode 1	Periode 2	Periode 3	Periode 4
DJLK	0,05	0,73	0,16	0,19
DLK	0,08	0,43	0,20	0,21
DLF	0,03	0,62	0,15	0,21
DLB	0,08	1,44	0,14	0,14

Hasil pengukuran konsentrasi logam Zn untuk empat lokasi dengan empat periode pengukuran tertera pada Gambar 7.



Gambar 7 Kurva konsentrasi logam Zn pada drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand

Dari Gambar 4.3 untuk konsentrasi logam Zn sebelum adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria 0,0289 – 0,0794 mg/L, sedangkan setelah aktifitas laboratorium dan kafetaria konsentrasi logam Zn berkisar antara 0,0340 – 1,444 mg/L. Sedangkan menurut peraturan pemerintah No. 82 Tahun 2001, konsentrasi logam Zn untuk kualitas air limbah yang baik adalah 2 mg/L, dan hasil analisis logam Zn pada laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi mempunyai kualitas baik. Logam Zn sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria mempunyai konsentrasi yang kecil, Namun, setelah adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria terjadi kenaikan konsentrasi logam Zn pada drainase laboratorium, hal ini disebabkan karena adanya buangan dari hasil aktifitas praktikum maupun kafetaria mengandung Zn, untuk konsentrasi logam Zn tertinggi terdapat pada drainase laboratorium biologi.

Sementara pada drainase laboratorium kimia, farmasi dan biologi logam Cd baik sebelum maupun setelah aktifitas praktikum tidak terdeteksi.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan percobaan dan analisis yang dilakukan serta hasil yang diperoleh dapat disimpulkan :

Kualitas drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand sebelum aktifitas laboratorium dan kafetaria tergolong baik,

namun setelah adanya aktifitas laboratorium dan kafetaria kualitas drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand tergolong sedang terutama untuk logam berat. pH drainase laboratorium Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi Unand adalah 6,0 -7,2 yang sesuai dengan standar kualitas air limbah nasional. Nilai BOD, COD, logam Pb, logam Cu, logam Fe , dan logam Zn dengan adanya aktifitas praktikum yang tertinggi bernilai 8,2800 mg/L, 26,7720 mg/L, 0,2400 mg/L, 0,7950 mg/L, 1,1670 mg/L, 1,4444 mg/L . Drainase Fakultas MIPA dan Fakultas Farmasi tidak terdeteksi adanya logam Cd.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis dan staf Laboratorium Kimia Analisis Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas.

6. Palar, H, **2004**, Pencemaran & toksikologi logam berat, *Rineka Cipta*, Jakarta

Referensi

1. Gabriel, J. F, **2001**, Fisika Lingkungan, Cetakan pertama, *Hipokrates*, Jakarta
2. Siradz, S.A, **2001**, Kualitas Air Sungai Code, Winongo dan Gajahwong, Daerah Istimewa Yogyakarta, *Fakultas Pertanian UGM*, Yogyakarta
3. Warlina, L, **2004**, Pencemaran Air: Sumber, Dampak dan Penanggulannya, Tesis Sekolah Pasca Sarjana, *Institut Pertanian Bogor*, Bogor
4. Salmin, **2000**, Kadar Oksigen Terlarut di Perairan Sungai Dadap, Goba, Muara Karang dan Teluk Banten. Dalam : Foraminifera Sebagai Bioindikator Pencemaran, Hasil Studi di Perairan Estuarin Sungai Dadap, *P3O - LIPI*, Tangerang
5. Effendi, H, **2000**, Telaahan Kualitas Air: Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. *Kanisius*, Yogyakarta

**PENENTUAN KANDUNGAN UNSUR HARA MIKRO (Zn, Cu, DAN Pb)
DIDALAM KOMPOS YANG DIBUAT DARI SAMPAH TANAMAN
PEKARANGAN DAN APLIKASINYA PADA TANAMAN TOMAT
(*Solanum lycopersicum* Mill)**

Yuli afrida Yanti, Indrawati, Refilda

Laboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: refilda_59@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The content of micro nutrients (Zn, Cu, dan Pb) in compost made from yard plant waste and it's application tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill) has been determined. The aim of composting is to replace inorganic fertilizer on agricultural land especially in tomato plants and to investigate a good dose's in composting tomato plants. To study the influence of dose's, ANOVA 2 variable with repeat assay has been applied. Micro nutrients (Zn, Cu, and Pb) available in plant growth were measured by Atomic Absorption Spectrophotometric (AAS). The compost media mixed well in soil with composition of compost (6 Kg : 1 Kg) and Zn; Cu, Pb were 1448,14; 155,39; and 353,35 mg/Kg, respectively. While for media inorganic fertilizer it was found to be: inorganic fertilizer (6 Kg : 0,01 Kg); and Zn, Cu, and Pb were 1553,19; 171,72; 340,31 mg/Kg, respectively.

Keywords: compost, inorganic fertilizer, Zn, Cu, Pb, AAS.

I. Pendahuluan

UU No 18 Tahun 2008 tentang Pengelolaan Sampah, disebutkan sampah adalah sisa kegiatan sehari hari manusia atau proses alam berupa zat organik atau anorganik bersifat dapat terurai atau tidak dapat terurai yang dianggap sudah tidak berguna lagi dan dibuang kelingkungan.

Jika sampah tidak dikelola dengan baik akan dapat menimbulkan dampak negatif terhadap manusia dan lingkungan, yaitu : pengelolaan sampah yang kurang baik akan membentuk lingkungan yang kurang menyenangkan bagi masyarakat seperti bau yang tidak sedap dan pemandangan yang buruk karena sampah bertebaran dimana-mana. Selain itu apabila sampah dibakar akan menimbulkan polusi udara yang dapat menganggu kesehatan.

Penggunaan pupuk anorganik pada saat ini dibatasi mulai tahun 2010 anggaran subsidi pupuk akan diturunkan secara bertahap dari Rp. 17 trilyun menjadi sekitar Rp. 11 trilyun. Hal ini tentu akan meningkatkan HET (harga eceran tertinggi) pupuk. Oleh karena itu, untuk menghindari dampak pengurangan subsidi pupuk nasional, diperlukan strategi yang tepat dan bijaksana yaitu meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk anorganik dan meningkatkan penggunaan kompos. Selain mengatasi sampah, kompos juga dapat memperbaiki kesuburan tanah.

Tumbuhan memerlukan sejumlah nutrisi untuk menunjang hidup dan pertumbuhannya. Tumbuhan membutuhkan unsur makro dan mikro dalam jumlah tertentu yang bervariasi tergantung jenis dan tingkat kebutuhan aktivitas nya. Unsur hara mikro seng (Zn) tembaga (Cu) merupakan unsur hara mikro

yang esensial. Tembaga (Cu) berfungsi sebagai aktifator untuk berbagai enzim, dan berperan dalam pembentukan klorofil. Seng (Zn) penting untuk metabolisme dalam tomat. Kandungan Pb dalam tumbuhan mempunyai batasan. Apabila banyak dalam tumbuhan maka akan mengganggu pertumbuhan dan bersifat racun. Sommer adalah penemu pertama yang menjelaskan bahwa tembaga merupakan mikronutrien penting untuk tanaman tomat, bunga matahari, dan rami.

Buah tomat saat ini merupakan salah satu komoditas hortikultura yang bernilai ekonomi tinggi dan masih memerlukan penanganan serius, terutama dalam hal peningkatan hasilnya dan kualitas buahnya. Apabila dilihat dari rata-rata produksinya, ternyata produksi tomat di Indonesia masih rendah, yaitu 6,3 ton/ha jika dibandingkan dengan negara-negara Taiwan, Saudi Arabia dan India yang berturut-turut 21 ton/ha, 13,4 ton/ha dan 9,5 ton/ha.

Oleh sebab itu, peneliti tertarik untuk membuat kompos dan sekaligus menganalisis unsur hara mikro dalam kompos tersebut, dimana kompos yang dihasilkan belum mempunyai data lengkap unsur hara yang dimilikinya. Setiap kompos memiliki kandungan yang berbeda. Kompos digunakan untuk pupuk organik dalam penanaman tomat, dan dibandingkan hasilnya dengan pupuk anorganik. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah mengetahui kadar unsur hara mikro Zn, Cu, dan Pb dengan menggunakan metoda AAS. Dan menggunakan uji ANOVA 2 variabel dengan ulangan untuk mengetahui perlakuan.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan antara lain: Sampah pekarangan, aktivator EM4, gula aren, asam nitrat (HNO_3) p.a, asam peroksida (H_2O_2) p.a, dan air distilasi, seng (II) nitrat $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 1000 mg/L, tembaga (II) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1000 mg/L, dan timbal (II) nitrat $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 1000 mg/L.

Alat yang digunakan antara lain: komposter, pengaduk, ayakan ukuran 0,3 x 0,3 cm, neraca analitik (XT 220A Precisa), aluminium voil, kertas saring W-41, labu semprot, labu Khajedhal, peralatan kaca, pemanas/block digester, dan SSA Varian AA240.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Pengomposan sampah pekarangan

Sampah pekarangan rumah dikumpulkan, dan dicacah hingga berukuran ± 5 cm. Kemudian dihomogenkan di tambah aktivator. Ditambah air dengan kelembaban 60 %. Masukkan kedalam komposter, didiamkan, setiap seminggu diaduk.

2.2.2. Persiapan media tumbuh tanaman tomat

Setelah dilakukan pengayakan kemudian dibuat perbandingan untuk media tumbuh tanaman tomat seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Media tumbuh tanaman tomat

Sampel	Label
Tanah	TK0
Tanah 6 Kg : Kompos 0,5 Kg	TK1
Tanah 6 Kg : Kompos 1 Kg	TK2
Tanah 6 Kg : Kompos 1,5 Kg	TK3
Tanah 6 Kg : Kompos 2 Kg	TK4
Tanah 6 Kg : Kompos 2,5 Kg	TK5
Tanah 6 Kg : Pupuk anorganik 0,01 Kg	TA1
Tanah 6 Kg : Pupuk anorganik 0,02 Kg	TA2
Tanah 6 Kg : Pupuk anorganik 0,03 Kg	TA3
Tanah 6 Kg : Pupuk anorganik 0,04 Kg	TA4
Tanah 6 Kg : Pupuk anorganik 0,05 Kg	TA5

2.2.3. Penentuan logam Zn, Cu, dan Pb dalam tanah, kompos, dan pupuk anorganik dengan metoda AAS

Setelah dibuat perbandingan pada Tanah: kompos dan Tanah: pupuk anorganik kemudian didestruksi terlebih dahulu sebelum diukur dengan SSA. Sampel diambil masing-masing sebanyak 0,5000 gram dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl. Kemudian ditambahkan 5 mL HNO_3 pekat + 0,5 mL H_2O_2 p.a dan dibiarkan 30 menit supaya bereaksi

sempurna. Setelah itu, dipanaskan pada *block digester/pemanas* mulai dengan suhu 100 °C, setelah uap kuning habis suhu dinaikan hingga 200 °C. Destruksi diakhiri bila sudah keluar uap putih. Didinginkan dan diencerkan dengan akuades dan volume ditepatkan menjadi 50 mL, dikocok hingga homogen, dan disaring dengan kertas saring W-41 agar didapat ekstrak jernih (Larutan A). Larutan A diukur dengan AAS untuk Zn, Cu, dan Pb pada panjang gelombang 213,9; 324,8; dan 283,3 nm.

2.2.4. *Penentuan komposisi tanah dan kompos untuk pertumbuhan tanaman tomat yang cocok.* Setelah dilakukan perbandingan campuran dan dianalisa, dilakukan penanaman bibit. Dimana dilakukan penanaman didalam 1 dosis ada 3 pot. Penyiraman dilakukan 2 (dua) kali sehari, pagi dan sore.

2.2.5. *Penanaman Tomat*

Bibit tomat masing-masing 3 buah pada media tanam yang telah dibuat perbandingan seperti pada tabel 1. Setelah seminggu tanaman tomat dicabut, dan tinggalkan didalam media tanam 1 batang yang dijadikan sebagai indikator.

2.2.6. *Pengamatan tanaman*

Pada tanaman dilakukan pengamatan sekali dua minggu. Pengamatan dilakukan dengan melihat tinggi batang, panjang daun, jumlah daun, dan buah yang dapat dilihat pada Tabel 5.

2.2.7. *Data Statistik*

Untuk mengetahui pengaruh pemberian kompos dan pupuk anorganik terhadap pertumbuhan tanaman tomat digunakan uji anova.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. *Kompos Matang*

Kompos yang dibuat dari sampah pekarangan dihasilkan pada minggu ke-12. Didapatkan kompos sebanyak 30 kg yang lolos dari ayakan. Proses pembuatan kompos dapat dilihat pada Lampiran 1. Bentuk komposnya kehitaman, dan berbau

tanah. pH yang didapatkan pada kompos yang dihasilkan yaitu 7,45; pH kompos dalam SNI pHnya 6,80 - 7,49 sedangkan yang didapat 7,45. Kadar air kompos didapatkan 44,76 % dimana mendekati SNI yaitu kadar airnya adalah 50 %.

3.2. *Unsur hara mikro (Zn, Cu, Pb) dalam tanah, kompos, pupuk anorganik*

Setelah didapatkan kompos matang kemudian ditentukan kadar unsur hara mikro didalam kompos tersebut. Selain itu dilakukan juga pengujian unsur hara mikro terhadap tanah dan pupuk anorganik. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar unsur hara (Zn, Cu, dan Pb) pada tanah, kompos, pupuk anorganik.

	Zn (mg/Kg)	Cu (mg/Kg)	Pb (mg/Kg)
Tanah	1740,7	175,9	449,1
kompos	527,6	18,6	12,6
pupuk anorganik	215,60	13,4	6,4

Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa kandungan logam banyak berasal dari tanah. Dimana dapat kita ketahui bahwa logam-logam kebanyakan berasal dari pelapukan dan mineral-mineral.

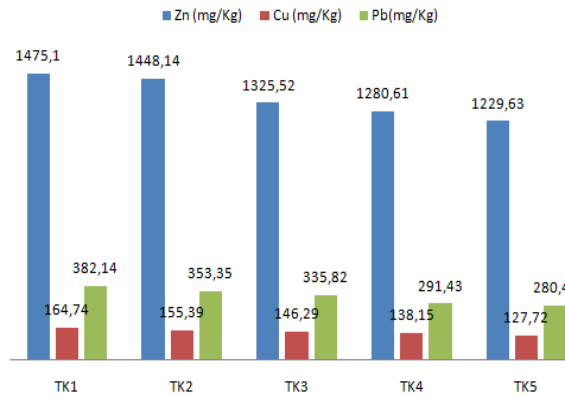
Timbal (Pb) didalam kompos berada dalam standar SNI (19-7030-2004). Dimana batas maksimum timbal dalam kompos yaitu 150 mg/Kg, sedangkan yang didapatkan 12,6 mg/Kg.

Setelah dilakukan pembuatan kompos kemudian dibuat campuran tanah:kompos dan tanah:pupuk anorganik kemudian dilihat berapa kadar unsur hara mikro (Zn, Cu, dan Pb) didalam campuran tersebut.

3.3. *Unsur hara mikro (Zn, Cu, Pb) dalam campuran tanah : kompos*

Unsur hara mikro campuran ditentukan setelah dibuat perbandingan seperti pada Tabel 1. Dimana unsur hara mikro yang ditentukan adalah Zn, Cu, dan Pb. Untuk

campuran tanah : kompos dengan berbagai perbandingan dapat dilihat hasilnya pada Gambar 2.



Gambar 2. Kadar Zn, Cu, dan Pb dari media campuran tanah : kompos; 1. TK 2. TK2, 3. TK3, 4. TK4, 5. TK5

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa dengan penambahan kompos kadar Zn, Cu, dan Pb berkurang. Karena dengan penambahan kompos maka pH dari campuran antara tanah dan kompos menjadi lebih basa atau lebih meningkat pHnya.

Tabel 3. pH dari campuran tanah (Kg): kompos (Kg)

Tanah (Kg) : kompos (Kg)	pH
TK1	6,98
TK2	7,07
TK3	7,16
TK4	7,32
TK5	7,41

Kelarutan Zn sangat tergantung kepada pH tanah, Semakin besar pH campuran antara tanah : kompos maka nilai dari unsur hara mikro (Zn, Cu, Pb) semakin menurun. Peningkatan pH dari 6.97 menjadi 7.41 dapat menurunkan kelarutan Zn dari 1475,1 mg/Kg menjadi menurun 1229,63 mg/Kg, Cu dari 164,74 mg/Kg menjadi menurun 127,25 mg/Kg dan Pb dari 382,14 mg/Kg menjadi menurun 280,49 mg/Kg.

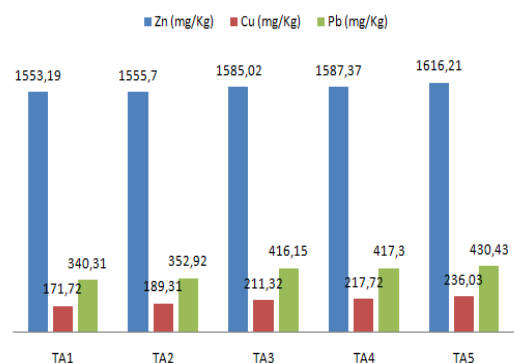
Jika pH naik, bentuk ion dari kation hara mikro yang semula mudah larut diubah menjadi hidroksida atau oksida yang tidak larut sehingga tidak dapat diserap oleh tanaman. Semakin basa tanah kebutuhan Zinknya semakin bertambah.

Penelitian McGrath dan Salam, memperlihatkan bahwa pada pH yang sama, kelarutan Cu lebih rendah di tanah dengan kandungan bahan organik tinggi daripada di tanah dengan kandungan bahan organik rendah. Ini menunjukkan bahwa kandungan bahan organik di dalam tanah dapat menurunkan ketersediaan unsur hara mikro.

Reaksi Zn dengan senyawa organik menghasilkan senyawa kompleks yang stabil antara lain dengan karboksilat dan fenolat. Namun bentuk ini masih dinilai lebih baik dibandingkan dengan pengikatan oleh tanah mineral, karena dapat dimanfaatkan tanaman.

3.4 Unsur hara mikro (Zn, Cu, Pb) dalam campuran tanah : pupuk anorganik

Unsur hara mikro campuran tanah : pupuk anorganik juga ditentukan. Adapun unsur hara mikro yang ditentukan yaitu Zn, Cu, dan Pb. Hal ini untuk mengetahui kadar unsur hara mikro didalam campuran. Hasil kadar unsur hara mikro dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kadar Zn, Cu, dan Pb dari tanah : pupuk anorganik; 1. TA1, 2. TA2, 3. TA3, 4. TA4, 5. TA5

Gambar diatas dapat dilihat bahwa dengan penambahan pupuk anorganik kadar Zn, Cu, dan Pb bertambah. Karena dengan

penambahan pupuk anorganik maka pH dari campuran antara tanah dan pupuk anorganik menjadi lebih menurun pHnya.

Tabel 4. pH dari campuran tanah (Kg) : pupuk anorganik (Kg)

Tanah (Kg) : Pupuk Anorganik (Kg)	pH
TA1	6,68
TA2	6,59
TA3	6,52
TA4	6,48
TA5	6,44

Kelarutan Zn sangat tergantung kepada pH tanah, Semakin kecil pH campuran antara tanah:pupuk anorganik maka nilai dari unsur hara mikro (Zn, Cu, Pb) semakin bertambah. Penurunan pH dari 6,68 menjadi 6,44 dapat menaikkan kelarutan Zn dari 1553,19 mg/Kg menjadi 1616,21 mg/Kg, Cu dari 171,72 menjadi 236,03 mg/Kg dan Pb dari 340,31 mg/Kg menjadi 430,43 mg/Kg.

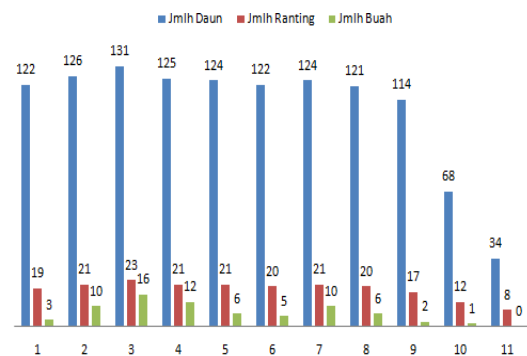
Pada pH agak tinggi Cu berbentuk ion kupri (Cu^{2+}) dan tidak mengendap. Pada pH yang lebih tinggi bentuk $\text{Cu}(\text{OH})^+$ lebih dominan dalam larutan tanah. Akan tetapi pada pH alkalis terjadi pengendapan Cu seperti bentuk CuO , Cu_2O atau $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Sebaliknya pada pH yang sangat rendah sering diendapkan oleh adanya H_2S dan membentuk CuS atau Cu_2S . Tanah akan mengikat Cu dengan kuat pada pH 7-8 sebaliknya ikatan ini semakin melemah dengan menurunnya pH.

Timbal (Pb) sebagian besar diakumulasi oleh organ tanaman, yaitu daun, batang, akar dan akar umbi-umbian (bawang merah). Perpindahan timbal dari tanah ke tanaman tergantung komposisi dan pH tanah. Kandungan Pb Total pada tanah pertanian berkisar antara 2-200 mg/L. Apabila konsentrasi timbal melebihi batas tersebut mengakibatkan pengaruh toksik pada proses fotosintesis dan pertumbuhan.

Timbal hanya mempengaruhi tanaman bila konsentrasinya tinggi. Pada keadaan ini logam berat Pb akan terlepas dari ikatan tanah dan berupa ion yang bergerak bebas pada larutan tanah. Jika logam lain tidak mampu menghambat keberadaannya, maka akan terjadi serapan Pb oleh akar tanaman.

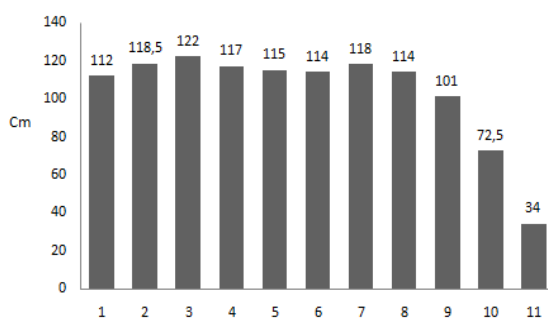
3.5 Pengamatan Tanaman Tomat

Pengamatan tanaman dilakukan satu kali dalam dua minggu, yang diamati adalah tinggi batang, banyak daun, panjang daun, dan buah. Untuk data pengamatan dapat dilihat pada Tabel 5.



Gambar 4. Jumlah daun , jumlah ranting dan banyak buah dengan media yang berbeda 1. TK0, 2. TK1, 3. TK2, 4. TK3, 5. TK4, 6. TK5, 7. TA1, 8. TA2, 9. TA3, 10. TA4, 11. TA5

Pada gambar 4 merupakan data pengamatan pada minggu ke-13 yang mana dapat kita lihat bahwa jumlah daun, jumlah ranting, dan jumlah bunga yang paling banyak terdapat pada media campuran antara tanah : kompos dengan perbandingan (6 Kg : 1 kg) dengan jumlah daun, ranting, dan buah adalah 131, 23, dan 16. Sedangkan media campuran tanah : pupuk anorganik pada perbandingan (6 kg : 0.01 kg) dengan jumlah daun, jumlah ranting, dan buah adalah 124, 21, dan 10. Dari data diatas dapat kita lihat bahwa media campuran tanah : kompos lebih bagus dari media campuran tanah : pupuk anorganik.



Gambar 5. Hubungan antara tinggi batang dengan media yang berbeda 1. TK0, 2. TK1, 3. TK2, 4. TK3, 5. TK4, 6. TK5, 7. TA1, 8. TA2, 9. TA3, 10. TA4, 11. TA5

Dari gambar 5 dapat kita lihat bahwa tanaman yang tertinggi terdapat pada media campuran tanah : kompos dengan perbandingan TK2 dengan tinggi 122 cm. Sedangkan untuk media campuran tanah : pupuk anorganik TA1 dengan tinggi 118 cm.

Unsur hara mikro Zn, Cu dan Pb yang didapatkan pada media campuran TK2 yang merupakan media yang terbaik adalah 1448,14; 155,39; dan 353,35 mg/Kg. Sedangkan untuk media campuran TA1 adalah 1553,19; 171,72; dan 340,31 mg/Kg.

Berdasarkan data pengamatan diatas dapat dilihat bahwa media campuran tanah : kompos lebih baik dari pada campuran media tanah : pupuk anorganik. Karena media tanah : kompos mempunyai kemampuan menyerap air yang tinggi dibandingkan tanah : pupuk anorganik. Selain itu pada kompos unsur haranya lebih lengkap dibandingkan dengan pupuk anorganik.

Pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain faktor internal (genetis) dan faktor eksternal (lingkungan). Faktor eksternal terdiri dari iklim, edafik dan biologis, sedangkan faktor internal terdiri dari ketahanan terhadap faktor eksternal, laju fotosintesis, respirasi, pembagian hasil asimilasi, aktifitas enzim, diferensiasi dan tipe meristem. Pertumbuhan dapat berlangsung bila disertai penyerapan air dan N, sedangkan deferensiasi sel dapat berlangsung apabila

terpenuhinya ketersediaan hasil fotosintesis dan temperatur yang tepat.

Untuk menentukan apakah data pertumbuhan berpengaruh nyata atau tidak terhadap dosis kompos yang diberikan maka digunakan uji anova. Dari data tersebut didapatkan bahwa dosis yang diberikan berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah ranting, dan jumlah buah. Data tersebut dapat dilihat pada Lampiran 7. Untuk media campuran tanah : kompos pada tinggi tanaman, fh yang didapatkan 15,631 sedangkan Ft nya adalah 2,33. Jadi ada pengaruh nyata terhadap dosis yang diberikan. Campuran tanah : pupuk anorganik pada tinggi tanaman, didapatkan fh 70,46 sedangkan Ft nya 2,33. Jadi ada pengaruh nyata juga dosis yang diberikan terhadap tinggi tanaman tomat.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sampah pekarangan dapat digunakan untuk kompos pada tanaman tomat. Kadar unsur hara mikro Zn, Cu, Pb dalam campuran tanah: kompos 6 : 1 kg yang mmberikan pertumbuhan yang baik pada tanaman tomat dimana kadar Zn adalah 1448, Cu 14; 155,39; dan Pb 353,35 mg/kg. Kadar unsur hara mikro Zn, Cu, Pb dalam campuran tanah: pupuk anorganik 6 : 0,01 yang memberikan pertumbuhan yang baik pada tanaman tomat dimana kadar Zn adalah 1553,19; Cu 171,72; dan Pb 340,31 mg/kg. Berdasarkan dari pengamatan kompos yang dibuat dari sampah pekarangan dapat menggantikan pupuk anorganik.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Artiningsih N. K. A, **2008**, Peran Serta Masyarakat Dalam Pengelolaan Sampah Rumah Tangga (Studi Kasus di Sampangan dan Jomblangan, Kota Semarang), *Tesis Serjana S-2 Ilmu Lingkungan*. Universitas Diponegoro.
2. Wahyunto, **2010**, Peta Potensi Penghematan Pupuk Anorganik dan Pengembangan Pupuk Organik pada Lahan Sawah Indonesia, *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Kementrian Pertanian.
3. Suyitno dan Paidi, **2002**, Identifikasi Kandungan Mg, N dan Fe semai cendana (*santalum album l.*) Tanpa inang. *Makalah Seminar Nasional Hasil Penelitian MIPA dan Pend. MIPA*, Universitas Negeri Yogyakarta.
4. Pich, A., and Scholz, G., **1996**, Translocation of copper and other micronutrients in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.): nicotianamine-stimulated copper transport in the xylem. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 47. No. 294. pp. 41-47.
5. Gautam, S. P., Bundela, P.S., Pandey, A.K., K.Awasthi, M., and Sarsaiya, S., **2010**, Composting of Municipal Solid Waste of Jabalpur City, *Global Journal of Environmental Research*, 4 (1): 43-46

DEGRADASI SENYAWA PROFENOFOS DALAM INSEKTISIDA CURACRON 500EC SECARA OZONOLISIS DENGAN PENAMBAHAN TiO₂/ZEOLIT

Yosi Febrika, Zilfa, dan Safni

Laboratorium Kimia Analisis Terapan Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: zilfa_58@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

A degradation process of profenofos has been studied by ozonolysis method with TiO₂-Zeolite as the catalyst. Profenofos is an active compound in Curacron 500EC and found to be toxic for insects, plants and for human as well. Ozonolysis is one of many organic compound degradation methods of by using ozone (O₃) that is powerfull to break C=C bond in organic compounds. In this work, ozonolysis method has been applied and supported by TiO₂-Zeolite catalyst in degradation of profenofos. The products of degradation yielded were measured by UV-Vis Spectrophotometer at 277 nm. Degradation of 150 mg/L profenofos without the addition of catalyst was of 13 % after 75 minutes. Surprisingly, when 10 mg TiO₂-Zeolite added into the same portion of solution, 85 % of the organic compound was diminished which can be concluded that the method applied in this work is good to improve the degradation grade of profenofos.

Keywords: degradation, ozonolysis, profenofos, TiO₂/Zeolite

I. Pendahuluan

Profenofos adalah salah satu jenis pestisida golongan organofosfat berbentuk cairan kuning muda yang memiliki bau seperti bawang putih.¹ Profenofos digunakan untuk mengendalikan hama serangga pada kapas, jagung, kentang, sayur-sayuran dan tanaman lainnya.² Profenofos bersifat toksik untuk mamalia, ikan dan mikroba.³ Penggunaan senyawa profenofos dibidang pertanian secara tidak terkendali akan menyebabkan semakin banyak residu senyawa ini yang terakumulasi di lingkungan. Oleh karena itu diperlukan suatu usaha penanganan yang tepat dari pengolahan polutan pestisida tersebut.

Pengolahan limbah dengan cara konvensional telah banyak dilakukan, namun akan menimbulkan limbah baru yang akan membahayakan lingkungan.⁴

Adapun metoda lain yang dapat dilakukan untuk menanggulangi limbah pestisida ini adalah denganmendegradasi senyawa tersebut secara sonolisis, fotolisis dan ozonolisis. Metoda sonolisis dan fotolisis telah banyak dilakukan. Safni dkk telah melakukan pendegradasian senyawa dikofol dalam pestisida kelthane 200EC dengan menggunakan TiO₂ sebagai katalisnya, didapatkan persen degradasi sebesar 86,13% setelah 180 menit.⁵ Sedangkan untuk metoda fotolisis telah dilakukan oleh zilfa dkk untuk mendegradasi senyawa pestisida yaitu permetrin dengan TiO₂ sebagai katalisnya yang menghasilkan persen degradasi sebesar 85,65% setelah 120 menit.⁶ Alternatif lain untuk degradasi dapat dilakukan secara ozonolisis dengan menggunakan TiO₂/Zeolit sebagai katalis.

Ozonolisis merupakan suatu metoda degradasi senyawa organik dengan menggunakan ozon (O_3), dimana terjadi pemutusan antara $C=C$ sehingga menghasilkan tingkatan rangkap $C=O$ hasil dari degradasi ini tergantung pada jenis ikatan rangkap yang teroksidasi dan kondisi perlakuan. Dalam fasa air, ozon dapat diuraikan oleh ion hidroksida (OH^-) atau basa konjugasi dari H_2O_2 (HO_2^-) menjadi radikal HO_2 dan OH^- yang dapat membantu proses degradasi senyawa organik dalam pestisida.⁷

TiO_2 /Zeolit adalah katalis gabungan antara TiO_2 dengan zeolit. Dimana TiO_2 diimbangkan ke dalam zeolit. TiO_2 merupakan salah satu katalis yang paling stabil. TiO_2 merupakan katalis yang paling sering digunakan dibandingkan dengan katalis lainnya, dimana mempunyai sifat inert.⁸ Zeolit alam dapat dimanfaatkan sebagai matriks untuk sintesis oksida-oksida logam disebabkan karena zeolit mempunyai pori-pori yang berdimensi nanometer sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pembatas pertumbuhan partikel.⁹

Aktivitas katalis TiO_2 dapat ditingkatkan melalui pengembanan pada material pendukung. Salah satu yang dapat digunakan untuk kepentingan tersebut adalah zeolit alam. Material TiO_2 teremban pada zeolit alam (selanjutnya disebut TiO_2 /Zeolit) memiliki fungsi ganda yaitu sebagai adsorben (dari sifat zeolit yang berpori dan memiliki kation yang dapat dipertukarkan).¹⁰

Berdasarkan hal di atas, maka dilakukan degradasi senyawa profenofos dalam insektisida Curacron 500EC secara ozonolisis dengan menggunakan ozon (O_3) dengan penambahan TiO_2 /Zeolit.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Curacron 500EC (Syngenta, dengan bahan aktif profenofos), TiO_2 -anatase (Ishihara Sangyo, LTD Japan), Zeolit alam,

Asetonitril (Merck), $AgNO_3$ (Merck), NaCl, dan Akuabides.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV/Vis (Evolution 201 UV-Vis Spectrophotometer), Reaktor ozon (Bioozone space age sterilizer, Natural Health Science Sdn.Bhd, malaysia), neraca analitik, oven, pengayak, sentrifus, magnetik stirer, hot plate, erlenmeyer, dan peralatan gelas lainnya.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Preparasi katalis TiO_2 -zeolit

2.2.1.1 Preparasi Na-Zeolit

Zeolit alam diayak menggunakan pengayak berukuran 250 mesh. Selanjutnya dicuci dengan akuabides, disaring, dan dikeringkan dalam oven. Sebanyak 25 mg zeolit ini kemudian dijenuhkan dengan NaCl sambil diaduk selama 24 jam, kemudian dicuci dengan akuabides. Setelah dicuci, pada filtrat ditambahkan $AgNO_3$. Pencucian dilakukan berulang-ulang sampai tidak lagi didapatkan endapan putih pada filtrat setelah ditambahkan $AgNO_3$.

2.2.2.2 Pilarisasi Zeolit

Na-Zeolit ditambahkan ke dalam akuabides dan diaduk dengan pengaduk magnet selama 5 jam. Na-Zeolit yang telah terdispersi ke dalam akuabides dicampurkan dengan 1 mg TiO_2 anatase. Hasil campuran dipisahkan dengan penyaring vakum kemudian dikeringkan dalam oven pada temperatur 110-120°C. Setelah kering, sampel digerus sampai halus kemudian diayak dengan menggunakan pengayak 100 mesh. Hasil ayakan dikalsinasi pada temperatur 350°C selama 12 jam. Terbentuk TiO_2 /Zeolit

2.2.2 Penentuan Variasi Pelarut Asetonitril:Akuabides

Untuk menentukan perbandingan pelarut asetonitril:akuabides dibuat larutan pestisida 50.000 mg/L dilarutkan dengan berbagai perbandingan pelarut asetonitril:akuabides (0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, 10:0) dalam labu ukur 10 ml. Pilih perbandingan pelarut yang menghasilkan larutan berwarna bening.

2.2.3 Pembuatan Larutan Stok Profenofos 500mg/L

Larutan profenofos 500mg/L dibuat melalui pengenceran bertingkat dari 500.000mg/L dengan faktor pengenceran 10x (1 ml dalam 10 ml). Selanjutnya dipipet 5 ml larutan profenofos 5000 mg/L yang diencerkan dalam labu 50 ml untuk membuat larutan stok 500mg/L. Pelarut yang dipakai adalah hasil optimum pada penentuan pemakaian campuran asetonitril:akuabides.

2.2.4 Penentuan Kelinearan Spektrum Senyawa Profenofos dengan Beberapa Variasi Konsentrasi.

Dibuat sederetan variasi konsentrasi profenofos dengan mengencerkan larutan induk menjadi 100, 150, 200, 250, dan 300 mg/L dan dilarutkan dengan pelarut asetonitril:akuabides. Selanjutnya masing-masing konsentrasi profenofos diukur absorbannya dengan Spektrofotometer UV-Vis. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dari beberapa variasi konsentrasi profenofos.

2.2.5 Penentuan Waktu Ozonolisis Tanpa Katalis

Larutan profenofos 150 mg/L dimasukkan ke dalam lima buah erlenmeyer dengan volume masing-masing 10 mL. Setelah itu masing-masingnya diozonolisis dengan beberapa variasi waktu. Selanjutnya larutan yang telah diozonolisis diukur absorbannya dengan Spektrofotometer UV-Vis.

2.2.6 Pengaruh Penambahan Jumlah Katalis Terhadap Degradasi Profenofos

Larutan profenofos 150mg/L sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam 5 buah erlenmeyer. Selanjutnya diozonolisis dengan penambahan variasi katalis 2, 4, 6, 8, 10, 12 mg selama 75 menit. Selanjutnya dilakukan degradasi dengan mengalirkan ozon ke dalam larutan. Hasil ozonolisis disentrifus selama 15 menit. Filtratnya diukur dengan Spektrofotometer UV. Setelah itu dilakukan perhitungan persentasi degradasinya.

III. Hasil dan Pembahasan

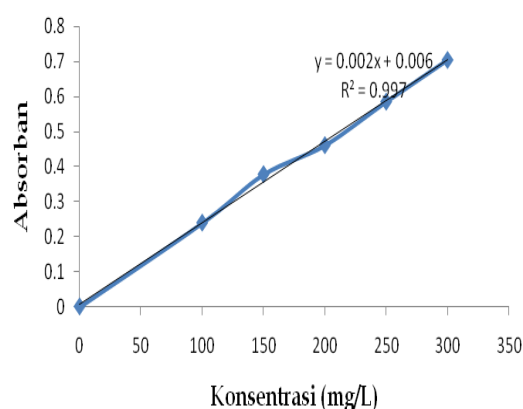
3.2 Data Pengamatan Variasi Pelarut

Tabel 1. Perbandingan Variasi pelarut

asetonitril: akuabides	Keterangan
0 : 10	Keruh
1 : 9	Keruh
2 : 8	Keruh
3 : 7	Keruh
4 : 6	Keruh
5 : 5	Keruh
6 : 4	Bening keruh
7 : 3	Bening
8 : 2	Bening
9 : 1	Bening
10 : 0	Bening

Tabel 1 memperlihatkan bahwa pelarut asetonitril:akuabides dengan perbandingan 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4 larutan pestisidanya masih keruh yang artinya belum terlarut sempurna. Sedangkan variasi pelarut 7:3, 8:2, 9:1, 10:0 larutan pestisida dapat larut dan menghasilkan warna bening. Untuk pengerjaan selanjutnya digunakan pelarut dengan perbandingan asetonitril 7:3.

3.1 Penentuan Kelinearan Spektrum Senyawa Profenofos dengan Beberapa Variasi Konsentrasi

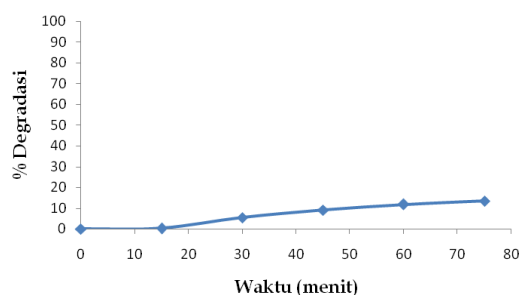


Gambar 1. Kurva kalibrasi standar profenofos

Dari gambar 1 dapat dilihat kelinieran absorban dari senyawa profenofos. Bila konsentrasi profenofos meningkat maka

absorbannya juga semakin besar. Dari perhitungan persamaan regresi dan sesuai dengan hukum Lambert-Beer maka didapatkan harga koefisien korelasi (R) = 0,997. Konsentrasi yang digunakan untuk degradasi adalah 150 mg/L dengan absorbansi 0,377.

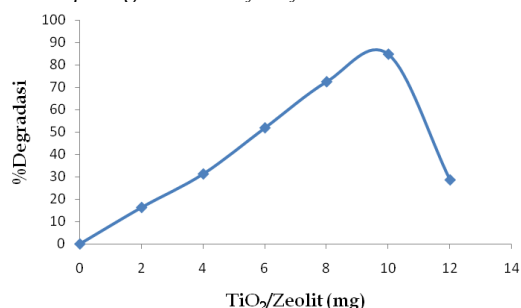
3.2 Pengaruh Waktu Ozonolisis Tanpa Katalis



Gambar 2. Pengaruh waktu ozonolisis terhadap persen degradasi profenofos

Dari Gambar 2 terlihat bahwa persentase degradasi profenofos meningkat dengan bertambahnya waktu ozonolisis. Semakin lama waktu ozonolisis yang digunakan maka semakin besar persentase degradasi yang didapatkan. Dengan bertambahnya waktu degradasi, ozon (O_3) dapat memproduksi radikal OH lebih banyak. Sehingga radikal OH tidak hanya menyerang senyawa pestisida pada permukaan larutan saja tetapi juga yang berada dalam larutan. Dimana persen degradasi yang terbesar pada waktu 75 menit yaitu sebesar 13,39%

3.3 Pengaruh Penambahan Katalis TiO_2 /Zeolit Terhadap Degradasi Profenofos.



Gambar 3. Pengaruh penambahan katalis TiO_2 /Zeolit terhadap persen degradasi profenofos.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa penambahan jumlah TiO_2 /Zeolit pada proses ozonolisis selama 75 menit, senyawa profenofos 150mg/L persen degradasinya semakin naik. Penambahan TiO_2 /Zeolit yang optimum adalah sebanyak 10 mg dimana persen degradasi sebesar 84,76%. Degradasi dengan penambahan TiO_2 /Zeolit dibawah 10 mg menghasilkan persen degradasi yang kecil ini disebabkan karena belum sepenuhnya degradasi. Sedangkan dengan penambahan lebih dari 10 mg TiO_2 /Zeolit persen degradasi menurun.

Sebenarnya profenofos terdegradasi lebih sempurna tapi disini terjadi kejenuhan larutan sehingga sulit untuk disentrifus. Begitu juga absorbansi sudah dipengaruhi oleh intermediet-intermediet yang lain yang mempengaruhi atau memperbesar absorbansi.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemiliran TiO_2 dengan zeolit terbukti dapat meningkatkan efisiensi proses degradasi senyawa profenofos dengan metoda ozonolisis. Profenofos 150 mg/L sebanyak 10 mL diozonolisis selama 75 menit tanpa penambahan katalis menghasilkan persentase degradasi sebesar 13,39%. Melalui penambahan variasi katalis TiO_2 /Zeolit, didapatkan bahwa 10 mg katalis TiO_2 /Zeolit merupakan kondisi optimum dalam pendegradasian dengan persentase degradasinya sebesar 86,06%. Hal ini menandakan zeolit terpilir TiO_2 mampu meningkatkan persen degradasi profenofos.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis Laboratorium Analisis Terapan Jurusan Kimia Universitas Andalas serta staf Laboratorium Universitas Andalas.

Referensi

1. Indrayani, N., 2006, Bioremediasi Tanah Tercemar Profenofos Secara Ex

- Situ Dengan Cara Pengomposan, *Tesis*. Intitut Pertanian Bogor.
2. Malghani, S., Chatterjee N., Hu, X., and Zejiao, L. **2009**, Isolation and Characterization of a Profenofos Degrading Bacterium, *J. of Environmental Sciences*, 21, 1597-1597
 3. Kementrian Pertanian, **2011**, Pedoman Pembinaan Penggunaan Pestisida. Jakarta.
 4. Zilfa, **2010**, Penggunaan TiO₂-anatase, Zeolit, dan Zeolit Terpilar TiO₂-anatase Sebagai Pendegradasi Permetrin Secara Sonofotolisis, *Disertasi*. Universitas Andalas .
 5. Safni, Desmiati, dan Suyani, H., **2009**, Degradasi Senyawa Dikofol Dalam Pestisida Kelthane 200 Ec Secara Fotolisis Dengan Penambahan TiO₂-Anatase. *J. Ris. Kim*, Vol. 2. No. 2, 140-147.
 6. Zilfa, Suryani, A., dan Jamarun, N. **2010**, Degradasi Senyawa Permetrin Secara Fotolisis Dengan TiO₂-anatase Sebagai Katalis. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, Vol. 11. No. 2, 107-111.
 7. Xu, X. W, Hui-xiang, S., Da-hui, W. **2005**, Ozonation with ultrasonic enchanment of p-nitrophenol wastewater, *J. Zhejiang Univ Science B.5*, 319-323.
 8. Fujishima, A., Rao, T. N., and Tryk, D. A. **2000**, Titanium Dioxide Photocatalysts, *J. Photochemistry and Photobiology C. Photochemistry Review*, 1-21.
 9. Utubira, Y., Wijaya, K., Triyono., dan Sugiharto, E. **2006**, Preparasi dan Karekterisasi TiO₂-Zeolit serta pengujiannya pada Degradasi Limbah Industri Tekstil secara Fotokatalitik. *Indo. J. Chem.* Vol. 6. No. 3, 231 - 237.
 10. Fatimah, I., Wijaya, K. **2006**, Sintesis TiO₂-Zeolit Sebagai Fotokatalisis pada Pengolahan Limbah Cair Industri Tapioka secara Adsorbsi-Fotodegradasi, *Teknoin*, 257-267.

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM AKTIVITAS KATALITIK MANGAN(II) YANG DIGRAFTING PADA SILIKA MODIFIKASI

Noerma Sari FN, Syukri, Zulhadjri

Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: syukri.darajat@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Catalyst is a compound that is widely used in industry to synthesize chemicals. In this work, a catalyst namely Mn(II)-acetonitrile immobilized on silica modifications have been successfully synthesized and applied as catalyst in transesterification of fried oil at its optimum conditions (catalyst concentration (% w/w)), speed of stirring and time reaction). The modified silica was characterized by Fourier Transform Infra Red (FT-IR) and Nano-Laser Particle Size Analyzer (NL-PSA) while Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) was used to determine the metal loading and leaching of the grafted sample. Transesterification products were analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). Based on NL-PSA measurement, particle size of silica and its modified form showed dominantly around 100 μm . From AAS analysis, loading and leaching metal values are 3.472% and 2.218%, respectively. The optimum conditions of the catalyst was to be 0.5% catalyst concentration, 100 rpm of stirring speed and 5 hours reaction time.

Keywords : Modified silica, Catalyst, Transesterification, Methyl Ester

I. Pendahuluan

Katalis merupakan bahan yang hampir selalu digunakan dalam bidang perindustrian. Katalis sangat penting dalam industri karena dapat menurunkan energi aktivasi reaksi dan meningkatkan laju reaksi. Dalam industri lebih dari 75% proses produksi bahan kimia disintesis dengan bantuan katalis. Oleh karena itu, sintesis katalis baik organik maupun anorganik perlu dikembangkan dan dimodifikasi, sehingga kegunaannya dapat ditingkatkan dan efek samping terhadap lingkungan dapat dikurangi seminimal mungkin^[1].

Senyawa kompleks transisi telah banyak dipelajari sebagai katalis dalam beberapa reaksi organik. Sifat-sifat kimia yang dimiliki logam pusat akan memberikan

pengaruh pada reaktivitas senyawa kompleks tersebut^[1,2]. Logam transisi dan senyawanya dapat berfungsi sebagai katalis dikarenakan memiliki kemampuan mengubah tingkat oksidasi dan dapat mengadsorpsi substansi yang lain pada permukaan logam dan mengaktifasi substansi tersebut selama proses berlangsung. Pada umumnya, hampir semua logam transisi dapat digunakan sebagai katalis karena logam transisi kaya akan elektron dan memiliki elektron tidak berpasangan sehingga mudah berikatan dengan atom lain^[3]. Senyawa dari logam transisi yang diamobilisasi pada zat pendukung, seperti silika modifikasi, Al-MCM-41 (*Aluminium-Mobile Crystalline Material-41*) dan Al-MCM-48 (*Aluminium-Mobile Crystalline Material-48*) telah banyak dipublikasikan memiliki aktifitas katalitik dalam berbagai reaksi^[4,5,6,7,8].

Pada penelitian sebelumnya, telah berhasil dilakukan amobilisasi senyawa kompleks Mn(II) dengan zat pendukung organik, yaitu poli(4-vinilpiridin) atau P4PV. Katalis Mn/P4PV diuji aktivitas katalitiknya terhadap reaksi transesterifikasi menggunakan minyak goreng (*palm oil*) yang telah digunakan untuk tiga kali penggorengan. Kestabilan dari katalis Mn/P4PV terhadap reaksi transesterifikasi mengalami penurunan reaktifitas setelah dipakai ulang untuk dua kali reaksi^[9]. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membandingkan kestabilan dari katalis menggunakan support P4PV terhadap support lain (seperti silika modifikasi) untuk mendapatkan katalis Mn yang lebih stabil.

Pada penelitian ini akan diamobilisasi suatu katalis senyawa kompleks mangan(II) dengan ligan dan pelarut asetonitril pada permukaan silika modifikasi. Silika modifikasi dibuat dengan fungsionalisasi permukaan silika dengan anilin ($C_6H_5NH_2$) yang bertindak sebagai basa Brønsted kemudian ditambahkan aluminium klorida ($AlCl_3$) sebagai asam Lewis^[10]. Aktifitas katalitik dari mangan(II) yang digrafting pada silika modifikasi diuji pada reaksi transesterifikasi minyak goreng untuk menghasilkan metil ester (salah satu biodiesel) sebagai sumber energi alternatif.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Adapun bahan yang digunakan adalah silika gel (SiO_2) (Merck), anilin ($C_6H_5NH_2$) (Merck), aluminium klorida heksahidrat ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$), Mangan (II) Sulfat ($MnSO_4$) (Merck), asetonitril (CH_3CN) (Merck), toluen ($C_6H_5CH_3$) (Merck), methanol destilasi (CH_3OH), minyak goreng "Tropical" dan aquades.

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah beberapa peralatan gelas, *magnetic stirrer*, neraca analitis (3 digit dibelakang

koma), oven, *rotary evaporator*, corong Büchner dan desikator, corong pisah. Instrument yang digunakan adalah AAS (*Younglin AAS 8020 Atomic Absorbtion Spectrophotometer*), *Fourier Transformation Infra-Red* (FT-IR) (Jascn FT IR 460 plus), *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) (QP 2010 S Shimadzu), *Nano Lazer Particle Size Analyzer* (NL-PSA) (Fritszh Analysette 22 Wet Dispersion Unit, Nano Tech Plus).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Sintesis Support Silika

Silika gel dipanaskan pada suhu $200\text{ }^\circ\text{C}$ selama 1 jam yang bertujuan memperluas permukaan silika dan mengaktifasi permukaan silika. Kemudian silika gel teraktifasi tersebut dicampurkan dengan 2,2 mL larutan anilin (dalam 50 mL toluen) dengan rasio molar anilin : $>Si-OH = 1,2 : 1$. Campuran distirer selama 24 jam sehingga didapatkan suspensi. Lalu ditambahkan 3,2 g aluminium klorida anhidrat ke dalam suspensi dengan perbandingan molar $AlCl_3 : >Si-OH = 1,2 : 1$, dan dilanjutkan dengan proses *stirring* selama 24 jam. Suspensi yang terbentuk kemudian disaring dengan corong Buchner dengan bantuan pompa vakum, dicuci dengan toluen sebanyak empat kali, dan disimpan dalam desikator. Support ini diberi nama [$>Si-O-AlCl_3$][H_3NPh] dan selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan FT-IR.

2.2.2 Sintesis Katalis Teramobilisasi

$SiO_2-[AlCl_3]$ direaksikan dengan 50 mL larutan asetonitril dari $MnSO_4$ dengan perbandingan molar $MnSO_4 : >Si-OH = 1,2 : 1$. Campuran distirer selama 24 jam. Suspensi yang terbentuk dicuci dengan asetonitril sebanyak empat kali dan disimpan dalam desikator. Katalis yang terbentuk diberinama katalis [$>Si-O-AlCl_3$]₂[$Mn(NCCH_3)_6$], dan diuji keberhasilan amobilisasinya menggunakan FT-IR. Sedangkan filtrat hasil pencucian dilakukan uji *metal loading* menggunakan AAS.

2.2.3 Uji Leaching

Untuk menguji kestabilan katalis, maka 0,5 g $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCH}_3)_6]$ dilarutkan dalam 15 mL asetonitril dan distirer selama 24 jam. Suspensi yang terbentuk disaring sehingga didapatkan filtrat dan endapan. Kadar Mn yang terdapat pada filtrat ditentukan dengan menggunakan AAS.

2.2.4 Optimalisasi Aktivitas Katalis Teramobilisasi

Untuk menentukan kondisi optimum aktifitas katalitik dari katalis $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCH}_3)_6]$ maka dilakukan dengan 3 parameter yaitu: konsentrasi katalis terhadap minyak, kecepatan pengadukan, dan lamanya pengadukan.

2.2.4.1 Variasi Konsentrasi Katalis

Variasi konsentrasi katalis $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCH}_3)_6]$ terhadap minyak (b/b) dalam pembuatan biodiesel dilakukan pada konsentrasi 0,25 %, 0,5 %, 0,75 %, 1 %, dan 1,25 % (b/b). Sesuai variasi konsentrasi, maka katalis ditambahkan kedalam larutan yang mengandung 5 mL metanol dan 10,649 g minyak goreng kemudian distirer selama 3 jam pada temperatur 60°C. Hasil reaksi adalah terbentuknya dua lapisan, lapisan atas yang diduga mengandung metil ester dan lapisan bawah yang diprediksi mengandung gliserol. Larutan metil ester yang terbentuk dipisahkan dari campuran dengan menggunakan *separator funnel* untuk kemudian dianalisis dengan GC-MS.

2.2.4.2 Variasi Kecepatan Pengadukan

Setelah didapatkan hasil GC-MS maka dapat diketahui kondisi optimum dari katalis. Kondisi optimum dari konsentrasi katalis inilah yang digunakan selanjutnya pada kecepatan pengadukan. Kecepatan pengadukan dalam proses reaksi transesterifikasi dilakukan dengan variasi kecepatan 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm, 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, dan 500 rpm. 0,5 % (b/b) katalis ditambah 5 mL metanol, lalu ditambahkan 10,649 gram minyak goreng, dilanjutkan dengan pengadukan selama 3 jam pada temperatur 60°C. Kemudian

dimasukkan kedalam *separator funnel*. Hasil yang terbentuk terdiri dari dua lapisan, lapisan atas yang diduga mengandung metil ester dan lapisan bawah yang diprediksi mengandung gliserol. Larutan metil ester yang terbentuk dipisahkan dari campuran dengan menggunakan *separator funnel* untuk kemudian dianalisis dengan GC-MS.

2.2.4.3 Variasi Lama Pengadukan

Penentuan waktu optimum dalam pembuatan biodiesel (dalam hal ini metil ester) dilakukan menurut variasi 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam dan 6 jam. 0,5 % (b/b) katalis ditambah dalam campuran 5 mL metanol dan 10,649 gram minyak yang dilanjutkan dengan pengadukan 100 rpm selama variasi waktu diatas pada temperatur 60 °C. Hasil reaksi adalah terbentuknya dua lapisan, lapisan atas yang diduga mengandung metil ester dan lapisan bawah yang diprediksi mengandung gliserol. Larutan metil ester yang terbentuk dipisahkan dari campuran dengan menggunakan *separator funnel* untuk kemudian dianalisis dengan GC-MS.

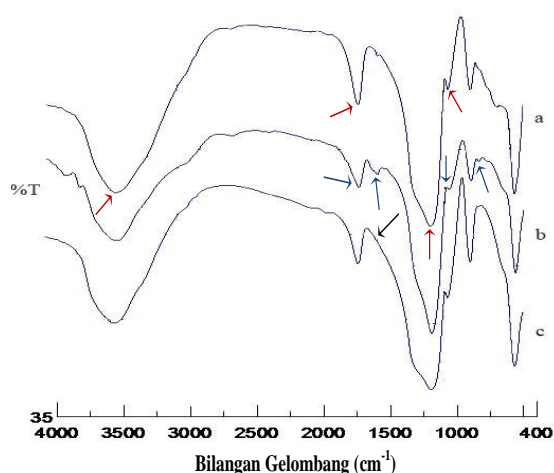
III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis Katalis Teramobilisasi dengan FTIR

Spektroskopi *infra red* adalah teknik yang berdasarkan pada vibrasi atom dalam molekul. Dari spektra FT-IR dapat diketahui pita serapan gugus fungsi dari suatu senyawa. Karakterisasi FT-IR dari sintesis katalis Mn(II) asetonitril yang digrafting pada silika modifikasi diukur pada daerah serapan 400- 3750 cm^{-1} .

Berdasarkan spektrum FTIR silika murni pada daerah pita serapan antara 400- 3750 cm^{-1} (Gambar 1a). Pita serapan utama yang menunjukkan gugus fungsi pada silika adalah pada bilangan gelombang sekitar 3500 cm^{-1} yang merupakan pita serapan spesifik O-H *stretching* dari gugus silanol permukaan yang selalu terdapat pada permukaan silika akibat proses

hidrasi^[11]. Kemudian pita serapan pada bilangan gelombang sekitar 1200 - 1300 cm^{-1} merupakan serapan spesifik yang menunjukkan vibrasi gugus Si-O-Si dalam *framework* silika. Pita serapan pada bilangan gelombang sekitar 1640 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi gugus Si-O-Si dari silika permukaan. Pita serapan sempit yang penting juga muncul antara 1000 - 1050 cm^{-1} yang berkenaan dengan vibrasi Si-O-H permukaan.^[7]



Gambar 1. Spektrum FTIR (a) Silika Murni (b) Silika Modifikasi (diberinama $[\text{>Si-O-AlCl}_3][\text{H}_3\text{NPh}]$), (c) Amobilat (diberi nama $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCH}_3)_6]$)

Keberhasilan proses amobilisasi silika ditandai dengan muncul dan hilangnya pita serapan serta terjadinya pergeseran pita serapan. Keberhasilan proses pembuatan silika modifikasi ditunjukkan dengan berkurangnya secara signifikan intensitas serapan pada daerah sekitar 1640 cm^{-1} berkenaan dengan telah tertutupnya permukaan silika dengan modifikator aluminium klorida. Selanjutnya penurunan intensitas serapan juga terjadi disekitar 900 - 1000 cm^{-1} yang mengindikasikan terbentuknya ikatan antara Si-O dengan Al membentuk Si-O-Al.^[10] Pada spektra muncul serapan baru pada sekitar 1510 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-N *stretching* aromatis dari molekul anilinium dan juga pada sekitar 850 cm^{-1} yang

kemungkinan merupakan vibrasi N-H ion anilinium. Semua temuan ini menunjukkan bahwa silika telah dapat dimodifikasi menghasilkan spesies yang ditulis sebagai $[\text{>Si-O-AlCl}_3][\text{H}_3\text{NPh}]$.

Keberhasilan proses amobilisasi kompleks logam Mn(II)-asetonitril tidak dapat dianalisis secara detail dengan FTIR karena tidak terlihat kemunculan pita serapan tajam dari vibrasi C-N asetonitril pada silika modifikasi. Satu - satunya petunjuk yang mengarah pada hal tersebut adalah hilangnya pita serapan anilinium secara drastis seperti yang terlihat pada Gambar 1c yang mengindikasikan pergantian kation anilinium dengan kation kompleks Mn(II) asetonitril. Disisi lain, karena asetonitril adalah ligan lemah dan kompleks yang dibentuknya dengan mangan bersifat labil maka molekul - molekul asetonitril sangat mudah terlepas dari mangan melalui penguapan yang menyebabkan tidak terbacanya pita serapan C-N asetonitril oleh FTIR. Keberadaan mangan selanjutnya lebih dijelaskan dengan hasil pengukuran AAS.

3.2. Analisis Uji Leaching dengan AAS (Atomic Absorption Spectrophotometry)

Analisis menggunakan AAS pada sintesis katalis teramobilisasi bertujuan untuk menentukan kadar logam Mn yang terdapat pada amobilat (*metal loading*) dan menentukan jumlah Mn^{2+} yang terlepas ke larutan setelah uji *leaching*. Semakin sedikit ion logam yang lepas ke pelarut berarti semakin stabil kompleks tersebut teramobilisasi pada *support* silika modifikasi. Nilai *leaching* dan *metal loading* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai *Metal Loading* dan *Leaching* dari Katalis $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCH}_3)_6]$

Metal loading (%)	3,472
Metal Leaching (%)	2,218

Berdasarkan data di atas, nilai *metal loading* dari $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCH}_3)_6]$ yaitu 3,472 % yang berarti cukup signifikan.

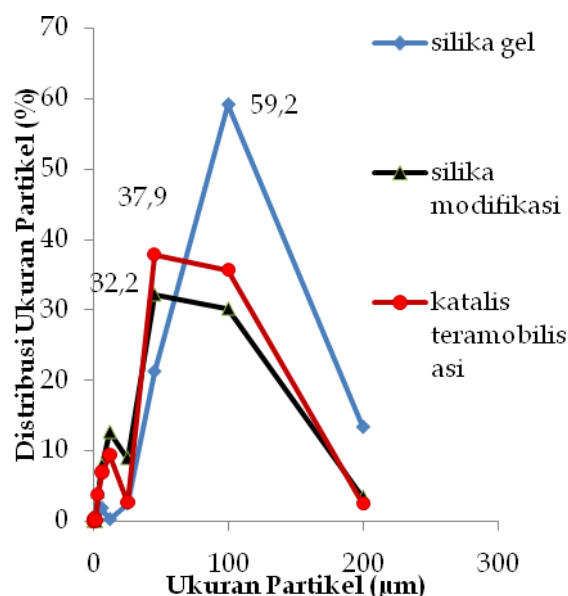
Nilai *metal leaching* menunjukkan bahwa amobilat kompleks Mn(II) tersebut cukup stabil karena nilainya kecil dari 10%.

3.3 Analisis Distribusi Ukuran Partikel dengan NL-PSA

Analisis menggunakan nano laser bertujuan untuk mengetahui ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Berdasarkan gambar 5 terlihat bahwa distribusi ukuran partikel silika gel terletak pada rentang 0,1 - 200 μm dengan ukuran partikel silika yang dominan adalah 100 μm dengan distribusi ukuran partikel adalah 59,2%. Distribusi ukuran partikel silika yang melebar ini mengindikasikan bahwa silika bersifat amorf^[10].

Setelah dilakukannya modifikasi maka rentang ukuran partikel menjadi 0,1 - 100 μm yang dominan pada 30 μm yang merupakan 32,2% dari keseluruhan ukuran partikel. Distribusi ukuran partikel dari silika gel ke silika modifikasi mengalami pergeseran ke arah yang lebih kecil. Hal ini disebabkan oleh penambahan *modifier* (AlCl_3)^[22]. Gaya tolakan yang terjadi antara aluminium klorida di permukaan dapat memecah ukuran partikel sehingga ukuran partikel lebih kecil. Ukuran partikel silika modifikasi cenderung bergeser ke arah kiri, hal ini menandakan semakin banyak partikel yang berukuran kecil setelah proses modifikasi.

Hampir mirip dengan silika modifikasi, *range* ukuran partikel katalis $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCCH}_3)_6]$ juga berada pada range 0,1 μm - 100 μm yang dominan pada 30 μm dengan distribusi ukuran partikel 37,9%. Kemiripan ini memberikan indikasi bahwa pergantian 2 kation $[\text{NH}_3\text{Ph}]^+$ ($M_r = 66$) mungkin terjadi dengan sebuah ion $[\text{Mn}(\text{NCCCH}_3)_6]^{2+}$ ($M_r = 301$) dimana beberapa kompleks Mn(II) sepertinya kehilangan ligan sehingga menjadi *naked ion*. Fenomena diperkuat dengan hilangnya pita serapan C-N asetonitril dari katalis pada analisis dengan FTIR.



Gambar 2. Grafik distribusi ukuran partikel dari silika gel, silika modifikasi, dan katalis $[\text{>Si-O-AlCl}_3]_2[\text{Mn}(\text{NCCCH}_3)_6]$

3.4 Analisis Optimalisasi Aktifitas Katalitik Katalis Teramobilisasi dengan GC-MS

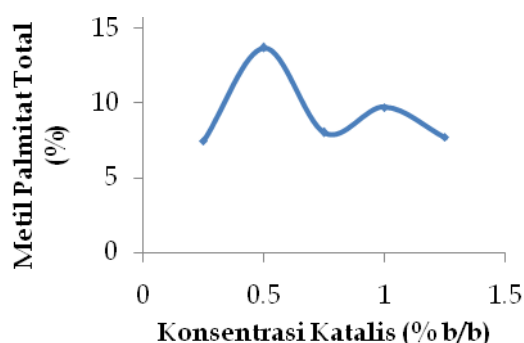
Reaksi transesterifikasi merupakan reaksi antara metanol dan minyak yang menghasilkan metil ester (biodiesel) dengan bantuan katalis hasil amobilisasi. Metanol berfungsi sebagai pelarut sekaligus reaktan, yang menyediakan spesies aktif ion metoksida yang akan terbentuk ketika ditambahkan katalis. Sedangkan minyak goreng merupakan substrat yang mengandung trigliserida^[12].

Metanol digunakan sebagai reaktan karena sifatnya lebih reaktif dibandingkan dengan etanol, sehingga penggunaan metanol akan menghasilkan mono dan diasilgliserol yang relatif lebih rendah.^[13] Selain itu, alasan digunakan metanol adalah karena metanol merupakan alkohol rantai terpendek dan bersifat polar, sehingga dapat bereaksi lebih cepat dan melarutkan hampir semua jenis katalis.

Identifikasi menggunakan GC - MS dilakukan untuk meyakinkan bahwa hasil sintesis yang diperoleh merupakan senyawa metil ester. Jumlah senyawa yang terdapat dalam sampel di karakterisasi

yang ditunjukkan oleh jumlah pita adsorpsi (peak) pada kromatogram, sedangkan nama/jenis senyawa yang ada diinterpretasikan berdasarkan data spektra dari setiap pita absorpsi tersebut dengan menggunakan metode pendekatan pustaka pada database GC - MS. [14]

3.4.1 Optimalisasi Variasi Konsentrasi Katalis
 Dari data GC - MS didapatkan 3 metil ester yang dominan yaitu metil palmitat, metil oleat, metil stearat. Semakin tinggi konsentrasi katalis semakin tinggi pula total metil ester yang diperoleh. Tetapi pada konsentrasi katalis 0,75 % (b/b) terjadi penurunan yang mungkin disebabkan proses desorpsi lebih kuat dari adsorpsi reaktan dan substrat sehingga menghasilkan metil ester yang lebih sedikit. Kondisi optimum dari katalis dalam mengkonversi trigliserida menjadi metil ester pada konsentrasi 0,5% dengan jumlah metil ester sebesar 13,72%.

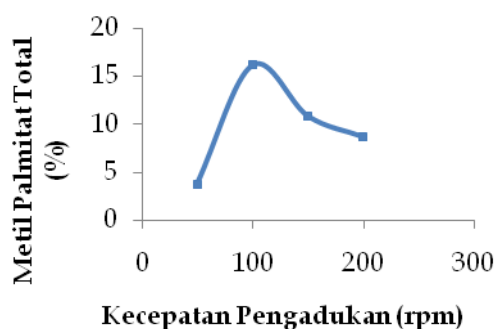


Gambar 3. Grafik konsentrasi katalis terhadap metil palmitat total dengan kecepatan pengadukan 300 rpm pada suhu 60°C selama 3 jam

3.4.2 Optimalisasi Variasi Kecepatan Pengadukan

Kecepatan pengadukan dalam reaksi pembentukan metil ester memberikan pengaruh yang sangat besar. Berdasarkan Gambar 4 kecepatan pengadukan pada 100 rpm menghasilkan konversi metil palmitat yang lebih besar. Pada kecepatan 100 rpm ini menghasilkan produk sebesar 16,16 %. Hal ini diperkirakan karena pengaruh

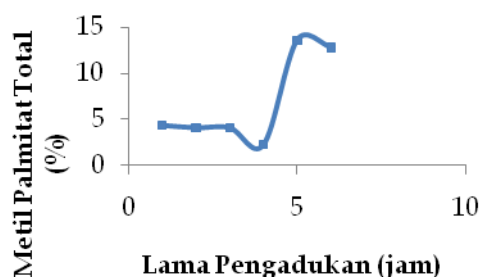
mekanisme katalis heterogen (adsorpsi dan desorpsi). Keseimbangan antara adsorpsi dan desorpsi akan sangat menentukan aktivitas katalis heterogen. Kecepatan pengadukan optimum akan memberikan kecepatan adsorpsi substrat/reaktan sebanding dengan kecepatan desorpsi produk, dimana substrat teradsorpsi sampai reaksi sempurna sehingga produk yang dihasilkan akan lebih banyak.



Gambar 4. Grafik hubungan variasi kecepatan pengadukan (rpm) dengan jumlah metil palmitat yang dihasilkan pada konsentrasi 0,5% b/b kecepatan dan suhu 60°C selama 3 jam

3.4.3 Optimalisasi Variasi Lama Pengadukan

Pada Gambar 5 terlihat bahwa semakin lama pengadukan maka semakin kecil metil palmitat yang didapatkan. Namun, pada lama pengadukan 5 jam terdapat kenaikan yang sangat signifikan dan mengalami penurunan lagi pada lama pengadukan 6 jam. Hal ini disebabkan pada lama pengadukan 5 jam mengalami proses penempelan reaktan pada substrat yang lebih sempurna.



Gambar 5. Grafik variasi lama pengadukan terhadap metil palmitat yang dihasilkan pada konsentrasi 0,5% b/b kecepatan 100rpm suhu 60°C

Secara teoritis, semakin lama reaksi, maka kemungkinan kontak antar zat semakin besar sehingga akan menghasilkan konversi yang besar. Jika kesetimbangan reaksi sudah tercapai maka dengan bertambahnya waktu reaksi tidak akan menguntungkan karena tidak memperbesar hasil.^[15]

IV. Kesimpulan

Hasil Analisis menunjukkan keberhasilan proses modifikasi silika dan juga keberhasilan sintesis katalis Mn(II)-Asetonitril teramobilisasi. Selain itu katalis ini bekerja optimum pada proses transesterifikasi pada konsentrasi 0,5 % b/b dengan kecepatan pengadukan 100 rpm selama 5 jam.

V. Ucapan terima kasih

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada seluruh analis yang telah bersedia membantu kami selama proses penelitian ini.

Referensi

1. Santen. R. A., Moulijn J. A., and Averill B. A. **1999**, *Catalysis: An Integrated Approach, 2nd Edition*. Elsevier Science & Technology, pp. 82-87

2. Blaser, H. U., Indolese, A., and Schnyder, **2000**, Applied Homogeneous Catalysis by Organometallic Complexes. *Current Science*, Vol. 78, No. 11, pp. 1336.
3. Housecroft, C. E. and Sharpe, A. G., **2005**. *Inorganic Chemistry, 2nd ed.* Pearson Education Limited: England.
4. Saktivel, A., Hijazi. A. K., M. Hanzlik., Chiang. A. S. T., and Kúhn . F. E., **2005**. Heterogenization of $[\text{Cu}(\text{NCCH}_3)_6][\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_4]_2$ and its Application in Catalytic Olefin Aziridination. *Applied Catalysis A, General*, 294, pp. 161.
5. Hidayat, H., S.Syukri., dan Admi., **2011**. Modifikasi Permukaan Silika Sebagai Material Pendukung Bagi Katalis Senyawa Kompleks Tembaga(II) Asetonitril: Sintesis dan Karakterisasi. *Skripsi Sarjana Kimia*, Universitas Andalas: Padang.
6. X. S. Zhao, X., Ying Bao., Wanping Guo., and Fang Yin Lee, **2006**, Immobilizing Catalysts on Porous Materials. *Materials Today*, Vol 9, No.3, pp. 32.
7. Syukri, S., Fischer. C. E., Al-Hmaideen. A. I., Yang Li., Ying Zheng., and Kühn. F. E., **2008**, Modified MCM-41-Supported Acetonitrile Ligated Copper(II) and its Catalytic Activity in Cyclopropanation of Olefins. *Microporous and Mesoporous Materials*, Vol 113, pp. 171-172
8. Fernandez, B. R., S. Arief., dan S. Syukri. **2010**. Amobilisasi Kompleks Kobal (II) Pada Silika Modifikasi dan Karakterisasinya. *Skripsi Sarjana Kimia*, Universitas Andalas: Padang.
9. Putri, Ananda., S. Syukri., dan Yetria Rilda. **2011**. Sintesis, Karakterisasi, dan Uji Katalitik Mn yang Diamobilisasi Pada P4PV. *Skripsi Sarjana Kimia*. Universitas Andalas : Padang.
10. Pratika. R. S., S.Syukri., dan Admi. **2012**. Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Katalitik Cu(II)-Asetonitril

yang Diamobilisasi pada Silika Modifikasi. *Skripsi Sarjana Kimia*. Universitas Andalas : Padang.

11. Stuart, B, **2004**. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Willey & Sons, Ltd.
12. Delia, Indah., Admi, dan S, Syukri. **2012**. Optimasi Aktifitas katalitik Fe (II)-Asetonitril yang Diamobilisasi pada Silika Modifikasi dalam Reaksi Transesterifikasi. *Skripsi Sarjana Kimia*. Universitas Andalas: Padang.
13. Rashid, U., F. Anwar., B. R. Moser., and S. AShraf. **2008**. Production of Sunflower Oil Methyl Esters by Optimized Alkali-Catalyzed Methanolysis. *Biomass and Energy*. Vol 32, pp. 1202 - 1205
14. Hendayana, S. **1994**. *Kimia Pemisahan Metoda Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. PT Remaja Rosdakarya, Bandung

ISOLASI TRITERPENOID DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*)

Fathur Rahmat Putra, Afrizal, Mai Efdi

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: afrizalitam@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation of triterpenoid and antioxidant activity from leaf of *Sonchus arvensis* extracts have been done. The methods used for isolation were maseration, fractionation and column chromatography. The isolated compound is white solid with melting point at 123.4-124.8 °C which gave single spot in every eluent. The functional groups of the compound were conjugated double bond, -OH alcohol, C-O alcohol, C-O ether, C-H and specific absorption for triterpenoid was *geminal dimethyl*. Furthermore, determination of antioxidant activity of the isolated compound was analyzed by DPPH radical scavenging method and have showed that its activities in methanol, ethyl acetate and hexane were found to be 75.8; 79.5; and 43.1 %, respectively.

Keywords: Sonchus arvensis, triterpenoid, antioxidant

1. Pendahuluan

Keanekaragaman tumbuhan di Indonesia diperkirakan tidak kurang dari 25.000 jenis. Kekayaan ini telah banyak dimanfaatkan bagi kehidupan, salah satunya sebagai tumbuhan obat. Hutan Indonesia memiliki jenis tumbuhan obat tidak kurang dari 9606 jenis dan baru sebagian kecil yang diteliti secara ilmiah. Banyak potensi tumbuhan obat yang belum diketahui terutama dari segi aktivitas biologisnya.^[1] Salah satu potensi dari tumbuhan obat tersebut adalah sebagai antioksidan. Tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan banyak dijumpai dilingkungan sekitar kita seperti sayur-sayuran (brokoli, wortel, tomat, bayam, mentimun, kubis), buah-buahan (anggur, alpukat, jeruk, semangka, apel), rempah-rempah (jahe, kunyit, cengkeh, lengkuas) dan tumbuhan lainnya.^[2]

Aktivitas antioksidan suatu bahan berperan penting dalam mengindikasikan

adanya kemungkinan aktivitas biologi lainnya. Hal ini disebabkan senyawa-senyawa antioksidan mempunyai khasiat yang dapat mengatasi berbagai macam gangguan metabolik.^[3] Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralsir radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya pada senyawa radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak.^[4] Penggunaan senyawa antioksidan saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan.^[5] Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan.^[4]

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah tempuyung (*Sonchus arvensis*) yang memiliki sejarah panjang dalam dunia pengobatan herbal. Tempuyung termasuk tanaman obat asli Indonesia dari familia *Asteraceae*, merupakan tanaman herba menahun, tegak, mengandung getah, dan mempunyai akar tunggang yang kuat. Tanaman ini hidup liar di daerah dengan ketinggian 50-1.650 m di atas permukaan laut. Tumbuh di tempat terbuka atau sedikit terlindung, di pematang, di pinggir saluran air, dengan tinggi 0,6-2 m. Batang dan daun tempuyung bisa dimakan sebagai lalapan walaupun rasanya pahit.^[6] Daun atau seluruh bagian tanaman tempuyung dapat digunakan sebagai obat batu saluran kencing, batu empedu, disentri, wasir, rematik, radang usus buntu (*apendisitis*), radang payudara (*mastitis*), bisul, darah tinggi (*hipertensi*), luka bakar, pendengaran kurang (tuli) dan memar. Akar tempuyung mengandung senyawa flavonoid total kira-kira 0,5% dan flavonoid yang terbesar adalah apigenin-7-0-glukosida. Senyawa flavonoid menunjukkan aktifitas yang bermacam-macam, diantaranya mempunyai aktifitas sebagai diuretik, anti virus, anti histamin, anti hipertensi, bakterostatik.^[7]

Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa triterpenoid yang terkandung di dalam daun tempuyung, kemudian dilakukan juga pengujian antioksidan terhadap ekstrak daun tempuyung dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikril-hidrazil*).

II. Metodologi Penelitian

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *Rotary Evaporator Heidolph WB 2000*, *spektrofotometer UV-1700 Series*, FTIR (*Fourier Transform Infrared*) *Perkin Elmer 1600 series*, *Fisher melting point apparatus*, penangas listrik, oven, labu ukur 50 mL dan 100 mL, pipet mikro, lampu UV 254

nm, kertas saring, plat KLT (silika gel 60 F₂₅₄), aluminium foil, kolom kromatografi, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Sampel daun tempuyung yang diperlukan untuk penelitian ini diambil di lingkungan kampus Universitas Andalas Padang. Sampel dikering anginkan pada udara terbuka dan tidak terkena cahaya matahari langsung kemudian dirajang, dihaluskan, dan ditimbang. Bahan-bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah n-heksana (C₆H₁₄), etil asetat (C₄H₈O₂) dan metanol (CH₃OH) teknis yang telah didistilasi. Untuk uji fitokimia digunakan metanol (CH₃OH), kloroform (CHCl₃), pereaksi *Liebermann-Burchard*, pereaksi Meyer, serbuk magnesium, akuades, besi (III) klorida (FeCl₃) 5%, asam sulfat (H₂SO₄) 2N, natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl) p.a, anhidrida asetat (C₄H₆O₃), ammonia(NH₄OH), asam sulfat (H₂SO₄) p.a, kristal iod (I₂), radikal DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) dan silika gel 60F₂₅₄.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Ekstraksi

Pada penelitian ini proses ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dan fraksinasi. Sampel sebanyak 1,7 kg yang telah dihaluskan direndam menggunakan pelarut metanol distilasi. Hasil ekstraksi yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak pekat metanol. Sebanyak 100 gram ekstrak pekat metanol dilarutkan dengan akuades sebanyak 200 mL, kemudian difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat yang telah didistilasi, sehingga dihasilkan dua fraksi yaitu fraksi heksana dan fraksi etil asetat. Masing-masing fraksi dipekatkan kembali dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak pekat heksana sebanyak 75 gram dan ekstrak pekat etil asetat sebanyak 6 gram.

2.2.2 Kromatografi

Fraksi etil asetat yang akan di kromatografi ditimbang sebanyak 3,5 gram dan dicampur dengan silika gel dengan perbandingan 1 : 1 dan digerus dengan lumpang sampai terbentuk bubuk. Kemudian dimasukkan secara hati-hati ke dalam kolom kromatografi (diameter 2,5 cm, tinggi 65 cm) yang sebelumnya telah disiapkan. Selanjutnya dilakukan pengelusian menggunakan eluen heksana: etil asetat menggunakan sistem *step gradien polarity* (SGP). Eluat ditampung dalam botol vial. Hasil kromatografi didapatkan sebanyak 302 fraksi. Kemudian setiap fraksi dianalisa pola pemisahan nodanya dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola noda dan nilai R_f (*retention factor*) yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih sedikit. Penggabungan fraksi-fraksi tersebut atas dasar analisis KLT menghasilkan fraksi yang lebih sedikit yaitu sebanyak 24 fraksi.

Fraksi E (74-80) kemudian dilakukan rekromatografi kolom dengan menggunakan silika gel sebanyak \pm 15 gram dan pengelusian dengan sistem *step gradien polarity*. Kolom kromatografi yang digunakan berdiameter 1,7 cm dengan tinggi kolom 17 cm. Hasil rekromatografi kolom didapatkan sebanyak 30 vial. Selanjutnya dilakukan uji KLT untuk melihat pola noda pada vial 10, yang mana pada vial 10 ini terdapat padatan berwarna putih yang menempel pada dinding dan dasar vial. Diambil sebagian padatan pada vial tersebut dan dilarutkan dengan pelarut etil asetat sehingga semua padatan larut. Kemudian ditambahkan pelarut n-heksana setetes demi setetes, perlahan-lahan tanpa dikocok, sehingga terbentuk 2 lapisan yang kemudian dipisahkan antara lapisan atas (n-heksana) dan lapisan bawah (etil asetat) menggunakan pipet tetes. Kemudian masing-masing filtrat dilakukan uji KLT menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (8 : 2) serta penampak noda kristal I_2 dan didapatkan noda tunggal ($R_f = 0,45$) pada lapisan atas (heksana).

2.2.3. Pengujian aktivitas antioksidan

Masing-masing sampel (ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana) ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan 50 ml metanol dalam labu ukur 50 ml, maka didapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian untuk penentuan aktivitas antioksidan dipipet sebanyak 0,2 ml larutan sampel dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH 50 μ M. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-vis. Sebagai kontrol dipipet sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 50 μ M dan ditambahkan dengan 0,2 ml metanol.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis Senyawa Hasil Isolasi

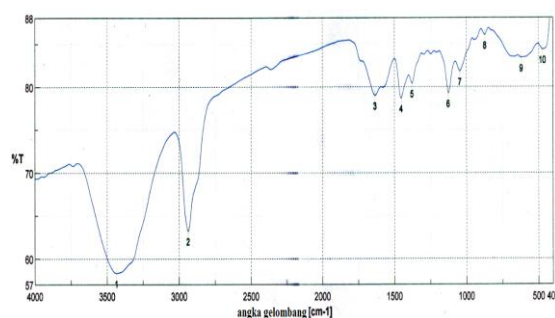
Diperoleh padatan putih pada vial 10 dari hasil rekromatografi kolom. Senyawa hasil isolasi dianalisa dengan menggunakan uji titik leleh, uji fitokimia, spektroskopi UV-Vis, dan spektroskopi IR. Dari pengukuran titik leleh senyawa hasil isolasi memberikan rentang titik leleh dari 123,4-124,8°C.

Uji fitokimia menggunakan pereaksi *Liebermann-Burchard* memberikan warna merah setelah diteteskan pada senyawa dalam plat tetes dan menunjukkan senyawa ini golongan triterpenoid.^[8]

Hasil pengukuran spektrum UV-Vis (*lihat Gambar 1*) senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya serapan pada daerah panjang gelombang maksimum 203nm, menunjukkan adanya ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi pada senyawa hasil isolasi.^[9]

Sementara itu, Spektrum IR (*lihat Gambar 2*) senyawa hasil isolasi memberikan informasi beberapa pita serapan penting, yaitu adanya serapan pada angka gelombang 3434,60 cm^{-1} menandakan adanya gugus fungsi OH alkohol dan

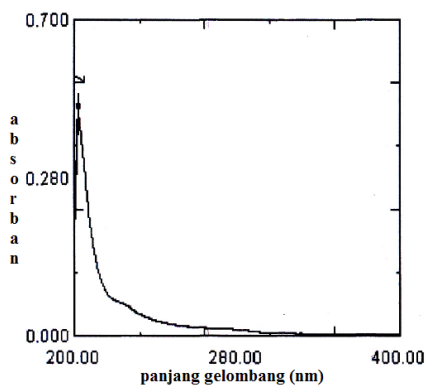
diperjelas dengan serapan pada angka gelombang 1046,19 cm^{-1} yang menandakan adanya vibrasi regangan C-O alkohol. Serapan OH juga didukung dengan adanya serapan pada angka gelombang 620,00 cm^{-1} yang menunjukkan bahwa OH tersebut berada di luar bidang. Serapan pada angka gelombang 1126,22 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C-O eter. Serapan pada angka gelombang 1635,34 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C=C alkena. Adanya serapan pada angka gelombang 2937,06 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi $-\text{CH}_3$ yang didukung dengan adanya bengkokan $-\text{CH}_3$ pada angka gelombang 1453,10 cm^{-1} .^[9,10] Geminal dimetil yang merupakan serapan khas senyawa golongan triterpenoid ditunjukkan pada daerah 1377,89 cm^{-1} ($\sim 1380 \text{ cm}^{-1}$ dan $\sim 1370 \text{ cm}^{-1}$). Serapan oleh geminal dimetil biasanya pecah menjadi dua puncak dengan intensitas yang sama, tapi kedua puncak ini tidak selalu tampak pada semua spektra, yang umum dijumpai hanya satu puncak saja.^[11]



Gambar 2. Spektrum Inframerah senyawa hasil isolasi

3.2. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan pada ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana dengan konsentrasi 500 ppm dilakukan menggunakan metode DPPH. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana pada konsentrasi 500 ppm dengan metode DPPH dapat dilihat pada tabel dibawah ini:



Gambar 1. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi

No	Larutan	Inhibisi (%)
1.	Ekstrak Metanol	75,8
2.	Ekstrak EtOAc	79,5
3.	Ekstrak heksan	43,1
4.	Vitamin C	83,2

Dari Tabel diatas dapat diinformasikan bahwa ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan ekstrak heksana dalam menetralsir radikal DPPH. Hal ini menjelaskan bahwa ekstrak etil asetat daun tempuyung mengandung lebih banyak senyawa yang dapat menghambat reaktivitas radikal bebas seperti radikal DPPH.

Jika dibandingkan dengan Vitamin C (500 ppm), menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat sedikit lebih rendah aktivitas

antioksidannya dibandingkan dengan Vitamin C.

IV. Kesimpulan

Beberapa kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah senyawa hasil isolasi merupakan triterpenoid yang mempunyai titik leleh 123,4–124,8°C, mempunyai ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi, dengan gugus fungsi alkohol dan eter. Data hasil uji antioksidan menggunakan DPPH menjelaskan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol dan ekstrak heksana, yaitu dengan nilai inhibisi 79,5 % sedangkan untuk ekstrak metanol dan ekstrak heksana berturut-turut adalah 75,8% dan 43,1%.

V. Ucapan terima kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada analis laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan Laboratorium Pengukuran Kimia FMIPA Universitas Andalas.

Referensi

1. Chairul, S.M., Sumarny, M., dan Chairul, 2003. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Tempuyung (*Sonchus oleraceus* L.) secara *in vitro*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14(4), 208-215.
2. Hernani, dan Rahardjo, M., 2006, Tanaman Berkhasiat Antioksidan. *Penebar Swadaya*, Jakarta.
3. Wulan, Dwi dan Chairul, 2011. Penapisan aktivitas antioksidan dan beberapa tumbuhan obat indonesia menggunakan radikal DPPH, *Majalah Obat Tradisional*, 16(1), 22-25, 2011.
4. Zuhud, 2011, Antioksidan Nabati Ramuan dan Aplikasi. *Penebar Swadaya*, Jakarta.
5. Hadi, W., 2011, Aktivitas antioksidan kandungan kimiawi ekstrak daun wungu (*Graptophyllum pictum* L). *Institut Pertanian Bogor*.
6. Heyne, K., 1987, Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid III (terjemahan), *Yayasan Sarana Wanjaya*, Jakarta, 1850.
7. Winarto, dan Karyasari, T., 2004, Tempuyung, Tanaman Penghancur Batu Ginjal. *Agro Media*, Jakarta, 2-14
8. Harborne, J. B.. 1984, Metode fitokimia, penentuan cara modern menganalisis tumbuhan, *ITB Bandung*, 3 - 9, 47 - 65, 123-158.
9. Silverstein, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C., 1981, Spectrometric Identification of Organic Compounds 4th Ed., *John Wiley and Sons*, 136-140, 306-311.
10. Sastrohamidjojo, H., 1992. *Spektroskopi Infra Merah*, FMIPA, UGM, Edisi I. Liberti : Yogyakarta, 56-58.
11. Fessenden and Fessenden, 1992, Kimia Organik Jilid 1, *Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga, 310-325.

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM AKTIFITAS KATALITIK Ni(II)-ASETONITRIL YANG DIAMOBILISASI PADA SILIKA MODIFIKASI UNTUK REAKSI TRANSESTERIFIKASI

Rika Mulya Sari, Syukri Darajat*, Syukri Arief dan Admi

Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

*e-mail: syukri.darajat@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Synthesis of Ni(II)-acetonitrile grafted on modified silica and its catalytic activity test in transesterification of fried oil have been investigated. The obtained catalyst material were characterized by Fourier Transform Infra Red (FT-IR), Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS), and Nano Laser Particle Size Analyzer (NL-PSA) which showed that Ni complex was immobilized on the surface of modified silica with Ni loading about 4 % and catalyst particle size mainly around 100 nm. The product of transesterification which followed by GC-MS confirmed that the optimum condition to produce methyl ester were 0,3% (b/b) catalyst concentration, 400 rpm rate of reaction and 3 hours of reaction time.

Keywords: catalyst, modified silica, immobilization, transesterification reaction, methyl ester.

I. Pendahuluan

Perkembangan ilmu pengetahuan yang cukup pesat dewasa ini, memberikan dampak yang sangat besar dibidang teknologi katalis. Dibuktikan dengan beragamnya fungsi dan pemanfaatan katalis diberbagai bidang seperti bidang industri, bahan kimia, dan kesehatan. Katalis sangat penting dalam industri karena dapat menurunkan energi aktivasi reaksi dan meningkatkan laju reaksi seperti yang digunakan dalam industri kimia, penanganan gas buang dan reaksi kimia lain. Sintesis katalis baik organik maupun anorganik perlu dikembangkan dan dimodifikasi, sehingga kegunaannya dapat ditingkatkan dan efek samping terhadap lingkungan dapat dikurangi seminimal mungkin.⁽¹⁾

Studi mengenai senyawa kompleks logam transisi menjadi sangat menarik terkait sifat kimianya yang dapat diaplikasikan sebagai

katalis. Sifat-sifat kimia yang dimiliki logam pusat seperti muatan, tingkatan oksidasi, konfigurasi elektron dan geometri akan memberikan pengaruh pada reaktivitas senyawa kompleks tersebut.⁽²⁾ Senyawa kompleks dari logam transisi mempunyai rumus umum $[M(L)_n]_x[A]_y$, dimana M adalah atom pusat, L adalah ligan lemah, dan A adalah anion berkoordinasi lemah atau tidak memiliki daya koordinasi yang diamobilisasi pada zat pendukung, seperti silika modifikasi, Al-MCM-41 (Alumunium Mobile Crystalline Material-41), dan Al-MCM-48 (Alumunium Mobile Crystalline Material-48), telah banyak dilakukan dan memiliki daya katalitik dalam berbagai reaksi.⁽³⁾ Syukri, C.E. Fischer, dkk telah mengheterogenisasi kompleks Cu(II) asetonitril pada material pendukung MCM-41 yang dimodifikasi dan aktifitas katalitik diuji pada reaksi pembentukan siklopropana dari olefin.

Banyak penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, pemanfaatan katalis homogen yang diamobilisasi pada material pendukung. Contohnya senyawa nikel dengan ligan asetonitril yang diamobilisasi pada material *support* poli-4-vinil piridin (P4VP) dan amobilisasi senyawa kompleks bimetal Nikel-Cobalt(II) asetonitril pada silika modifikasi menunjukkan katalis heterogen tersebut mempunyai aktivitas katalitik dan telah diujikan dalam reaksi transesterifikasi minyak untuk menghasilkan *biodiesel*.⁽⁴⁻⁵⁾ Katalis heterogen ini sangat menguntungkan dalam reaksi katalitik selain mudah dipisahkan dari produknya dan dapat dipakai ulang.⁽⁶⁾

Pada penelitian ini, telah dilakukan sintesis senyawa kompleks Ni(II) asetonitril yang diamobilisasi pada silika modifikasi dan diuji aktivitas katalitiknya pada reaksi transesterifikasi minyak, kemudian ditentukan beberapa kondisi optimum untuk memperoleh metil ester dalam jumlah terbanyak. Adapun parameter yang digunakan dalam penentuan kondisi optimum, yaitu konsentrasi katalis (b/b), kecepatan pengadukan (rpm), dan lama waktu pengadukan (jam). Katalis heterogen diperoleh dengan cara mengamobilisasi kompleks Ni(II) asetonitril pada permukaan *support* silika yang sudah dimodifikasi. Permukaan silika induk terlebih dahulu difungsionalisasi dengan basa Bronsted anilin(C₆H₅NH₂) dan diintroduksi dengan asam Lewis aluminium klorida (AlCl₃). Kompleks Ni(II) asetonitril yang sudah diamobilisasi tersebut (amobilat) dikarakterisasi dengan FT-IR, AAS, NL-PSA. Produk metil ester (*biodiesel*) dari aktivitas katalitik katalis ini dalam reaksi transesterifikasi minyak menjadi *biodiesel* ditentukan dengan GC-MS.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah silika gel (SiO₂) (Merck), anilin (C₆H₅NH₂) (Merck), aluminium klorida heksahidrat

(AlCl₃.6H₂O), nikel (II) heksahidrat (Ni(NO₃).6H₂O) (Merck), asetonitril (CH₃CN) 95% (Merck), toluen (C₆H₅CH₃)95% (Merck), metanol destilasi (CH₃OH), minyak goreng "tropical" aquades. Peralatan yang digunakan adalah erlenmeyer, gelas piala, corong buchner, corong pisah, gelas ukur, pipet tetes, corong, labu refluks. Instrument yang digunakan adalah AAS (Younglin AAS 8020 *Atomic Absorption Spectrophotometer*), *Fourier Transformation Infra-Red* (FT-IR) (Jascn FT IR 460 plus), *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) (QP 2010 S Shimadzu), *Nano Lazer Particle Size Analyzer* (NL-PSA) (Fritszh Analysette 22 Wet Dispersion Unit, NanoTech Plus).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Sintesis Katalis Teramobilisasi Silika gel dipanaskan pada suhu 200°C selama 1 jam untuk proses aktivasi. Kemudian 20 g silika gel teraktivasi tersebut dicampurkan dengan 2,2 mL larutan anilin (dalam 50 mL toluen) dengan rasio molar anilin : >Si-OH = 1,2 : 1. Campuran distirer selama 24 jam sampai diperoleh suspensi. Kemudian ditambahkan 3,2 g aluminium klorida (AlCl₃) anhidrat ke dalam suspensi dengan perbandingan molar AlCl₃ : >Si-OH = 1,2 : 1, dan dilanjutkan dengan proses *stirring* selama 24 jam. Suspensi yang terbentuk kemudian disaring dengan corong Buchner dengan bantuan pompa vakum, dicuci dengan toluen, dan disimpan dalam desikator. *Support* (media katalis yang akan diamobilisasi) ini diberi nama SiO-AlCl₃.

Silika yang sudah dimodifikasi ditimbang sebanyak 14,7535 g, dimasukkan kedalam labu refluks kemudian ditambahkan 50 mL asetonitril. Nikel nitrat anhidrat sebanyak 4,38 g dimasukkan kedalam campuran tersebut (perbandingan rasio molar Ni(NO₃)₂ : >Si-OH = 1,2 : 1). Campuran direfluks pada suhu 80° C selama 24 jam. Suspensi disaring dengan corong buchner kemudian dicuci dengan asetonitril sebanyak empat kali, kemudian dikeringkan. Katalis heterogen yang terbentuk disimpan dalam desikator.

Katalis yang terbentuk adalah $\text{SiO-AlCl}_3\text{-Ni}(\text{CH}_3\text{CN})_4$ ¹².

2.2.2. Karakterisasi Katalis

2.2.2.1. Karakterisasi Katalis Teramobilisasi Ikatan yang terjadi antara gugus silanol permukaan dari silika serta keberadaan kation kompleks diidentifikasi menggunakan FT-IR. Untuk menentukan kandungan logam (*metal loading*) Ni pada katalis yang teramobilisasi dikarakterisasi dengan AAS. Ukuran partikel dari katalis yang sudah diamobilisasi tersebut di karakterisasi dengan menggunakan alat *Nano Lazer Particle Size Analyzer (NL-PSA)* (Fritszh Analysette 22 Wet Dispersion Unit, NanoTech Plus).

2.2.2.2. Uji *Leaching*

Untuk mengetahui kestabilan katalis yang terbentuk. Katalis ditimbang 0,5 g kemudian dilarutkan dalam 30 mL asetonitril dalam erlenmeyer dan distirer selama 24 jam. Suspensi disaring dengan corong buchner, kemudian filtratnya diambil. Kandungan logam nikel yang terdapat dalam filtrat diukur dengan menggunakan alat AAS.

2.2.3. Optimasi Aktivitas Katalitik Katalis Teramobilisasi

Kondisi optimum aktivitas katalitik dari katalis yang dihasilkan diujikan pada reaksi transesterifikasi minyak untuk membentuk biodiesel (metil ester) dengan parameter uji yaitu: konsentrasi katalis (b/b), kecepatan pengadukan (rpm), dan lama waktu pengadukan (jam).

2.2.3.1. Pengaruh Konsentrasi Katalis Teramobilisasi

Katalis (b/b) divariasikan konsentrasinya 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5% terhadap minyak, (0,1010 g, 0,2012 g, 0,3018 g, 0,402 g, 0,503 g). Katalis yang ditimbang tersebut ditambahkan 5 mL metanol dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang tertutup rapat distirer selama 15 menit. Minyak ditimbang 10,60 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer tersebut dilanjutkan dengan pengadukan pada 300 rpm selama 3 jam pada temperatur 60° C. Campuran yang terbentuk di dalam

erlenmeyer terdiri dari dua lapisan. Lapisan atas adalah produk *biodiesel* yang terbentuk dan lapisan bawah berupa gliserol. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah untuk memisahkan *biodiesel* dan gliserol. Kandungan *biodiesel* (metil ester) dianalisis menggunakan GS-MS.

2.2.3.2. Kecepatan Pengadukan

Sebanyak 0,3018 g yang digunakan dalam penentuan kecepatan pengadukan (didapatkan dari kondisi optimum variasi konsentrasi), kemudian ditambahkan 5 mL metanol dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang tertutup rapat distirer selama 15 menit. Minyak ditimbang 10,60 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer tersebut dilanjutkan dengan variasi kecepatan pengadukan 100, 200, 300, 400, dan 500 (rpm) selama 3 jam pada temperatur 60° C. Campuran yang terbentuk di dalam erlenmeyer terdiri dari dua lapisan. Lapisan atas adalah produk *biodiesel* yang terbentuk dan lapisan bawah berupa gliserol. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah untuk memisahkan *biodiesel* dan gliserol. Kandungan *biodiesel* (metil ester) dianalisis menggunakan GS-MS.

2.2.3.3. Lama Pengadukan

Sebanyak 0,3018 g yang digunakan dalam penentuan lama waktu pengadukan (didapatkan dari kondisi optimum variasi konsentrasi), kemudian ditambahkan 5 mL metanol dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang tertutup rapat distirer selama 15 menit. Minyak ditimbang 10,60 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer tersebut dilanjutkan dengan pengadukan 400 rpm (didapat dari kondisi optimumnya) kemudian distirer selama variasi waktu yaitu: 1, 2, 3, 4, dan 5 (jam) pada temperatur 60° C. Campuran yang terbentuk di dalam erlenmeyer terdiri dari dua lapisan. Lapisan atas adalah produk *biodiesel* yang terbentuk dan lapisan bawah berupa gliserol. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah untuk memisahkan *biodiesel* dan gliserol. Kandungan *biodiesel* (metil ester) dianalisis menggunakan GS-MS.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis Katalis Teramobilisasi dengan Fourier Transformation Infra Red (FTIR)

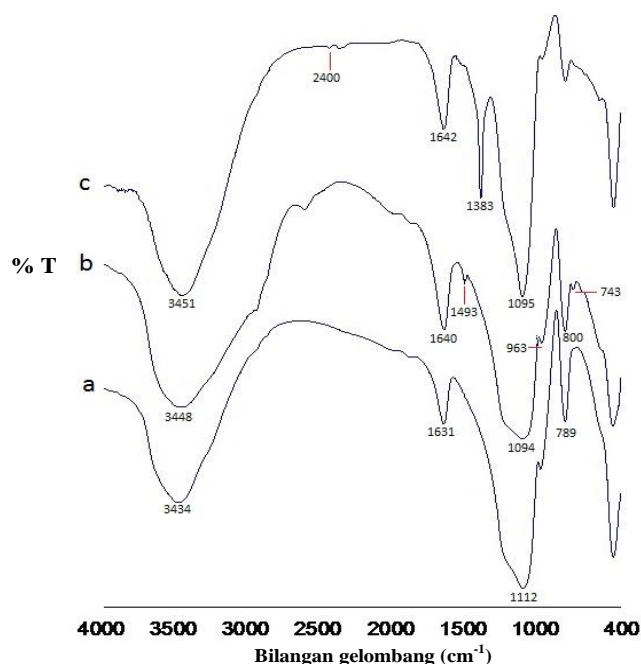
FT-IR merupakan metoda analisis untuk melihat gugus-gugus fungsi, komposisi kimia dan ikatan yang terjadi yang terdapat dalam suatu senyawa baik senyawa organik maupun anorganik. Karakterisasi dari FT-IR disini bertujuan untuk mengetahui apakah suatu modifikasi dan amobilisasi telah terjadi. Sampel yang diukur adalah silika murni, silika modifikasi dan amobilat. Berdasarkan hasil karakterisasi instrumen FT-IR diperoleh spektrum dari silika induk (murni), silika modifikasi, dan amobilat.

Hasil spektrum FT-IR pada gambar 1a memperlihatkan spektrum FT-IR dari silika murni terdapat pita serapan utama yang menunjukkan gugus fungsi spesifik dari gugus silanol (Si-O-H) *stretching* pada angka gelombang 3434 cm^{-1} , pita serapan yang kedua pada angka gelombang 1112 cm^{-1} yang menandakan gugus dari siloksan (Si-O-Si) dengan intensitas serapan yang kuat, hal ini diperkuat dengan munculnya pita serapan pada daerah sidik jari yaitu pada angka gelombang 789 cm^{-1} yang mengindikasikan Si-O-Si dan pita serapan pada 1631 cm^{-1} menandakan gugus H-O-H *bending* dari air hidrat.

Keberhasilan suatu proses modifikasi ditandai dengan munculnya pita serapan baru dan terjadinya pergeseran pita serapan. Dari gambar 1b pita serapan baru, yang muncul pada angka gelombang 1493 cm^{-1} mengindikasikan serapan gugus C-N *stretching* aromatis dari molekul anilin. Bila dibandingkan dengan spektrum silika induk, pita serapan pada daerah ini tidak ada. Sehingga bisa diasumsikan bahwa anilin berpartisipasi sebagai basa Bronsted untuk mengaktifkan spesies permukaan silanol pada silika modifikasi. Data ini diperkuat dengan munculnya pita serapan pada daerah 741 cm^{-1} menandakan adanya vibrasi $-\text{NH}_2$ *wagging* dari anilin, ini menandakan bahwa anilin tidak terikat

secara kimiawi pada *support* silika, namun hanya sebatas interaksi fisika yang lemah. Interaksi fisika ini sangat dibutuhkan oleh anilin, karena anilin hanya berfungsi sebagai penarik proton (Basa Bronsted) yang mana jika terjadi interaksi secara kimiawi, maka akan mengganggu proses masuknya asam Lewis pada *support*.

Pita serapan yang menandakan keberhasilan masuknya asam Lewis pada silika modifikasi adalah munculnya pita serapan pada angka gelombang 963 cm^{-1} dengan intensitas yang lemah yang menunjukkan adanya ikatan antara Si-O dengan logam, Si-O-Al dari AlCl_3 . Sehingga diperkirakan AlCl_3 telah berikatan dengan $[\text{Si-O}]^-$ secara elektrostatis. Hal ini juga diperkuat pada daerah sidik jari dengan pita serapan pada angka gelombang 406 cm^{-1} yang merupakan serapan spesifik terhadap halida yang berasal dari AlCl_3 .



1. Spektrum FT-IR a. Silika Murni; b. Silika Modifikasi; c. Amobilat.

Pita serapan yang bergeser yaitu pita serapan gugus Si-O-Si dari 1112 cm^{-1} ke 1094 cm^{-1} dan pita serapan Si-OH dari 3434 cm^{-1} ke 3448 cm^{-1} serta pita Si-O-Si dari 789 cm^{-1}

ke 800 cm^{-1} . Pada gambar 5c memperlihatkan spektrum FT-IR dari kompleks $[\text{Ni}(\text{NCCH}_3)_4]^{2+}$ yang diamobilisasi pada silika modifikasi.

Keberhasilan proses amobilisasi ditandai dengan terjadinya pergeseran pita serapan ke arah angka yang lebih besar disebabkan oleh koordinasi asetonitril sebagai ligan pada atom pusat Ni(II), munculnya pita serapan baru dan hilangnya pita serapan lama. Pita serapan yang bergeser yaitu pita serapan Si-OH *stretching* dari 3448 cm^{-1} ke 3451 cm^{-1} , pita Si-O-Si dari 1094 cm^{-1} ke 1095 cm^{-1} . Pita serapan yang hilang yaitu pada 1493 cm^{-1} yang menandakan C-N *stretching* aromatis dari molekul anilin dan pita serapan pada 743 cm^{-1} menandakan serapan gugus $-\text{NH}_2$ *wagging* dari anilin. Pita serapan pada 1382 cm^{-1} semakin tajam, hal ini menandakan bahwa nitrat yang berasal dari garam logam transisi nikel terikat kuat pada kompleks yang terbentuk. Munculnya pita serapan baru dengan intensitas lemah pada daerah 2300-2400 cm^{-1} mengindikasikan pita serapan gugus C-N dari asetonitril.

3.2 Hasil Analisis Uji Leaching dan Penentuan Kadar Logam dengan AAS

Leaching merupakan proses lepasnya logam yang teramobilisasi pada *support* ke pelarut. Jadi salah satu tujuan dilakukannya uji *leaching* yaitu melihat kestabilan dari atom pusat bertahan pada suatu senyawa. Semakin sedikit logam yang teramobilisasi pada *support* terlepas ke pelarutnya, maka semakin stabil senyawa tersebut terkoordinasi antara logam dan ligan-ligan yang ada demikian juga sebaliknya.

Sampel yang diukur adalah filtrat dari amobilat sebelum dan sesudah uji stabilitas. Karakterisasi AAS ini bertujuan untuk menentukan kadar Ni dalam amobilat sebelum dan sesudah uji stabilitas. Sebelum dilakukan uji stabilitas maka banyaknya kadar Ni yang dapat berikatan dengan *support* disebut dengan *metal loading*.

Setelah diuji secara statistik dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, dapat disimpulkan bahwa persamaan regresi larutan standar dapat digunakan karena $r_{\text{eksperimen}} > r_{\text{tabel}}$.

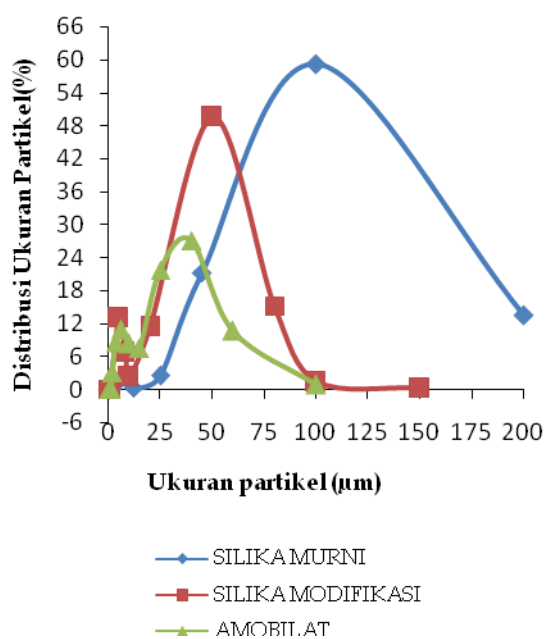
Sebelum dilakukannya uji stabilitas didapatkan nilai *metal loading* yang terdapat pada logam Ni yaitu sebesar 3,976 %. Nilai ini menyatakan bahwa sedikit logam Ni yang dapat berikatan dengan *support*, tetapi nilai *leaching* yang didapatkan cukup kecil yaitu 0,025% hal ini menyatakan kompleks yang terbentuk cukup stabil karena hanya sedikit logam yang teramobilisasi terlepas kepelarutnya setelah uji stabilitas yaitu kecil dari 10% yang mengindikasikan kestabilan dari suatu amobilat.

3.3 Hasil Analisis Particle Size Analyzer (PSA)

Analisis menggunakan nano laser bertujuan untuk mengetahui ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Pada gambar 2 dapat dilihat bahwa ukuran partikel silika yang lebar pada range 1-200 μm dan distribusi ukuran partikel silika yang dominan pada 60%. Ukuran partikel silika yang melebar ini mengidentifikasi silika tersebut bersifat amorf. Setelah dilakukan modifikasi pada silika rangenya menjadi lebih kecil yaitu, 1-150 μm dan distribusi ukuran partikel yang dominan 50%. Hal ini disebabkan oleh pengaruh penambahan *modifier* yaitu AlCl_3 . Gaya tolakan yang terjadi antara AlCl_3 dipermukaan dapat memecah ukuran partikel sehingga menyebabkan ukurannya menjadi lebih kecil.

Pada amobilat ukuran partikel menjadi lebih kecil lagi yaitu pada range 1-100 μm dengan distribusi ukuran partikel yang dominan pada 40%. Hal ini dapat diasumsikan keberhasilan dari proses amobilisasi yaitu didapatkannya ukuran partikel amobilat yang lebih kecil dibandingkan dengan silika modifikasi dan silika murni. Ukuran partikel yang semakin kecil pada amobilat disebabkan oleh interaksi gaya tolakan yang terjadi antara

senyawa kompleks pada permukaan support sehingga dapat memecah ukuran partikel. Dihasilkannya amobilat dengan ukuran partikel yang lebih kecil akan sangat menguntungkan bagi katalis karena semakin kecil ukuran partikel maka akan memperbesar luas permukaan spesifik sehingga akan mempengaruhi kecepatan reaksi.



Gambar 2. Grafik dari distribusi ukuran partikel dan ukuran partikel dari silika murni, silika modifikasi, dan amobilat.

3.4. Analisis Aktifitas Katalitik Katalis Teramobilisasi dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Dilakukan penentuan kondisi optimum aktivitas katalitik nikel(II) asetonitril yang diamobilisasi pada silika modifikasi pada reaksi transesterifikasi minyak membentuk senyawa metil ester (*biodiesel*) dengan tiga parameter yaitu konsentrasi katalis (b/b), kecepatan pengadukan (rpm), dan lama waktu pengadukan (jam). Senyawa metil ester yang terbentuk dianalisis dengan GC-MS. Identifikasi dengan GC-MS dilakukan untuk meyakinkan bahwa hasil sintesis yang diperoleh memang benar merupakan senyawa *biodiesel*.

3.4.1 Variasi Konsentrasi Katalis

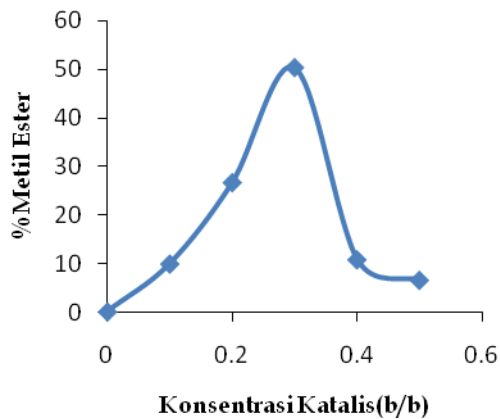
Variasi konsentrasi katalis merupakan parameter pertama yang dilakukan pada reaksi transesterifikasi dalam penentuan kondisi optimum pada penelitian ini, dikarenakan konsentrasi katalis sangat berpengaruh dalam reaksi transesterifikasi. Variasi konsentrasi katalis yang digunakan yaitu 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5% (b/b).

Katalis menyediakan suatu jalur pilihan dengan energi aktivasi yang lebih rendah. Katalis mengurangi energi yang dibutuhkan untuk berlangsungnya reaksi. Tanpa adanya katalis reaksi dari transesterifikasi ini tidak berlangsung.⁽²⁴⁾ Maka dari itu aktivitas katalitik dari amobilat yang disintesis diuji kondisi optimumnya dalam reaksi transesterifikasi minyak membentuk metil ester terbanyak.

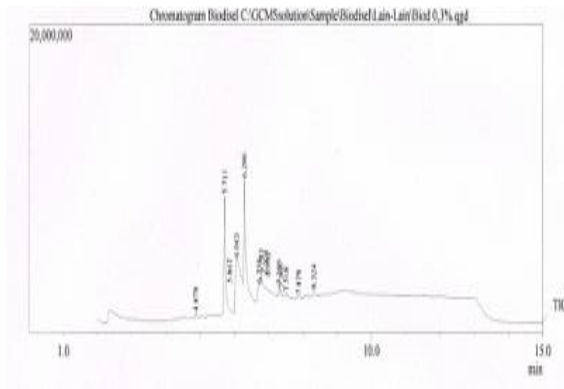
Berdasarkan analisis GC-MS diketahui bahwa katalis mempunyai aktivitas dalam reaksi transesterifikasi. Pada gambar 8 dengan meningkatnya konsentrasi katalis dari 0,1 sampai 0,3%, maka semakin besar jumlah metil ester yang dihasilkan. Pembentukan produk metil ester pada konsentrasi 0,3% diperoleh total metil ester terbesar yaitu 50,37% yang didapat dari total % area (luas puncak) dari senyawa metil ester yang terdiri dari metil palmitat (18,85%), metil oleat (29,92%), dan eicosanoic acid metil ester (1,60%). Diperkirakan pada konsentrasi katalis 0,3% lebih banyak spesies aktif ion metoksida yang menyerang molekul-molekul trigliserida karena semakin tinggi konsentrasi katalis maka dapat menurunkan energi aktivasi sehingga meningkatkan jumlah molekul teraktifkan dan menghasilkan metil ester yang lebih banyak. Kemudian menurun jumlahnya pada konsentrasi 0,4% dan 0,5%.

Pembentukan metil ester dipengaruhi karena adanya kompetisi penggunaan metanol sebagai reaktan dan pelarut protik yang dapat menyeimbangkan anion metoksida yang terbentuk dari katalis

setelah melepaskan proton. Semakin meningkatnya konsentrasi katalis, metil ester yang dihasilkan semakin menurun. Hal ini disebabkan juga pada katalis heterogen adanya mekanisme *adsorpsi* dan *desorpsi*. Pada konsentrasi katalis diatas 0,3% kecepatan *adsorpsi* substrat tidak sebanding dengan kecepatan *desorpsi* produk oleh sebab itu, metil ester yang dihasilkan menurun jumlahnya.



Gambar 3. Kurva total metil ester yang dihasilkan dari variasi konsentrasi katalis pada kecepatan 300 rpm selama 3 jam.



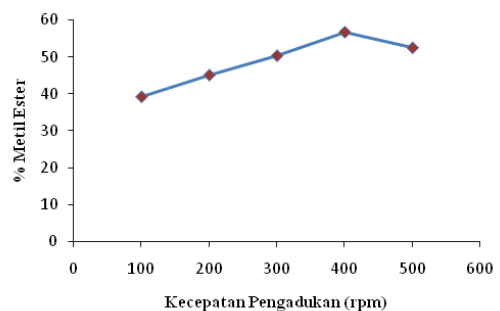
Gambar 4. Kromatogram Metil Ester pada Konsentrasi 0,3% pada Kecepatan Pengadukan 300 rpm Selama 3 jam.

3.4.2 Variasi Kecepatan Pengadukan

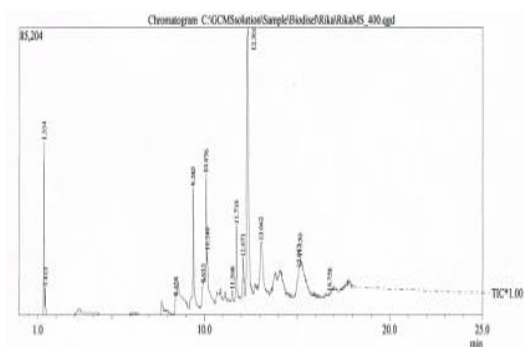
Parameter yang kedua adalah kecepatan pengadukan pada reaksi transesterifikasi minyak menjadi biodiesel. Dari perlakuan sebelumnya didapatkan konsentrasi

optimum 0,3% digunakan untuk parameter selanjutnya yaitu kecepatan pengadukan pada 100 rpm, 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm. Dari hasil analisis GC-MS dapat dilihat pada gambar 5. Pada kecepatan 400 rpm diperoleh produk metil ester paling banyak. Total dari metil ester 56,68% yang terdiri dari metil palmitat (7,26%), metil oleat (7,28%), metil margaret (3,03%) dan tridecil oktanoat (39,11%). Pengadukan akan menambah frekuensi tumbukan antara molekul zat pereaksi dengan zat yang bereaksi sehingga mempercepat reaksi dan reaksi terjadi sempurna. Diperkirakan pada kecepatan 400 rpm ini efisiensi penggunaan katalis optimal dibandingkan kecepatan yang lainnya.

Pada kecepatan pengadukan yang besar dari 400 rpm kecepatan desorpsi lebih cepat dibandingkan kecepatan adsorpsi sehingga proses pengikatan substrat dan katalis tidak berlangsung sempurna, sehingga produk metil ester yang dihasilkan lebih sedikit dan juga semakin besar kecepatan pengadukan maka efisiensi katalis, dan substrat akan semakin berkurang. Karena semakin besar kecepatan pengadukan kemungkinan akan semakin besar prekursor menempel pada dinding reaktor.



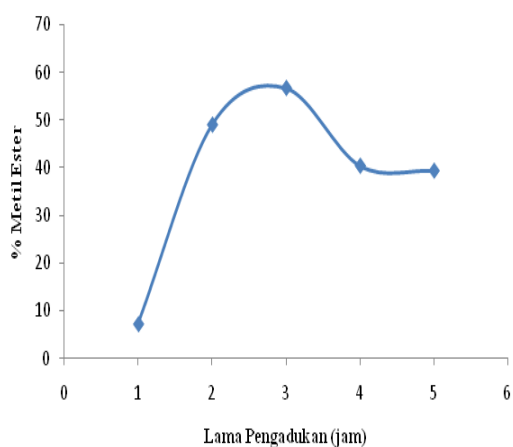
Gambar 5. Kurva total metil ester variasi kecepatan pengadukan pada konsentrasi 0,3% selama 3 jam.



Gambar 6. Kromatogram dari senyawa metil ester kecepatan pengadukan 400 rpm konsentrasi 0,3% selama 3 jam.

3.4.3 Variasi Lama Waktu Pengadukan

Variabel yang ketiga adalah variasi lama waktu pengadukan. Dari data yang telah didapatkan sebelumnya, yaitu konsentrasi dan kecepatan yang optimum pada (0,3% dan 400 rpm) menghasilkan metil ester terbanyak, maka dilanjutkan dengan variasi lama waktu pengadukan, yaitu : 1, 2, 3, 4, dan 5 (jam).



Gambar 7. Kurva total metil ester variasi lama pengadukan pada konsentrasi 0,3%, kecepatan pengadukan 400 rpm.

Pada gambar 7 dapat diamati pada lama pengadukan 3 jam, diperoleh metil ester dalam jumlah terbesar yaitu, total dari metil ester 56,68% yang terdiri dari metil palmitat (7,26%) metil margaret (3,03%), metil oleat (7,28%), dan tridecil oktanoat (39,11%),

semakin lama waktu reaksi maka semakin banyak metil ester yang terbentuk karena semakin lama waktu kontak antara substrat dan katalis dan terjadi penurunan setelah waktu pengadukan lebih dari 3 jam. Hal ini disebabkan semakin lama waktu reaksi maka kemungkinan terjadinya hidrolisis ester amatlah besar. Reaksi esterifikasi merupakan reaksi reversible yang menghasilkan produk samping berupa air. Air akan menyebabkan reaksi bergeser ke arah kiri sehingga metil ester akan terhidrolisis.

Selain itu, jika kesetimbangan reaksi sudah tercapai maka dengan bertambahnya waktu reaksi tidak akan menguntungkan karena tidak memperbesar hasil. Jumlah metil ester yang didapatkan dapat dilihat pada tabel 3, karena pada perlakuan sebelumnya, yaitu kecepatan pengadukan waktu yang dipakai adalah 3 jam dan dihasilkan metil ester dengan jumlah terbanyak.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil beberapa kesimpulan, antara lain: Kompleks katalis Ni(II) asetonitril yang diamobilisasi pada silika modifikasi mempunyai aktifitas katalitik yang cukup baik pada reaksi transesterifikasi minyak dalam menghasilkan produk metil ester (biodiesel) dan diperoleh metil ester sebesar 56,68%, pada kondisi optimum reaksi dengan parameter uji konsentrasi katalis heterogen 0,3% (b/b), kecepatan pengadukan 400 rpm, dan lama waktu pengadukan selama 3 jam.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis Laboratorium Kimia Material dan Pengukuran Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Santen. R. A., Moulijn, J. A. van Leeuwen Piet, W. N, Averill, B. A., 1999, *Catalysis: An Integrated Approach*, 2nd Ed., Elsevier Science & Technology Books. Blaser, H.

- U., Indolese, A., and Schnyder., **2000**, Applied Homogeneous Catalysis by Organometallic Complexes, *Current Science*, Vol. 78, No. 11, p. 1336
- Alhmaideen, A. I. S., **2008**, Synthesis, Characterization and Application of Solvent Stabilized Transition Metal Cations with Weakly Coordinating Anions. *TU Munchen*.
 - Riadi, J., Syukri dan Emdeniz, **2011**. Sintesis, Karakterisasi dan Uji Katalitik Katalis Bimetal Ni-Co yang Diamobilisasi pada Silika Modifikasi. *Skripsi Sarjana Kimia*, Padang, Universitas Andalas.
 - Saputra, H. A., dan Syukri, **2011**, Sintesis, Karakterisasi dan Uji Katalitik Katalis Nikel(II)asetonitril yang Diamobilisasi pada Poli(4-Vinilpiridin), *Skripsi Sarjana Kimia*, Padang, Universitas Andalas.
 - Zhao, X. S., and Lu, G. X., Environmental Friendly Catalysts Based On Mesoporous Silicates: Imobilization of Aluminium Chloride for the Isopropylation of Naphthalene., *Departement of Chemical Engineering*, The University of Queensland, St Lucia, Brisbane, QLD 4072, Australia.
 - Housecroft, C. E. and Sharpe, A. G., **2005**, *Inorganic Chemistry*, 2nd edition. England : Pearson Prentice-Hall.
 - Syukri., Hijazi, A.K., Sakthivel, A., Al-Hmaideen, A. I. S., and Kuehn, F. E., **2006**, Heterogenization of Solvent-Ligated Copper(II) Complexes on Poly (4-vinylpyridine) for the catalytic Cyclopropanation of Olefins, *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 360, p.197
 - U.S.Environmental Protection Agency., **1999**, Toxicological Review of Acetonitrile. Washington DC.
 - Zhao, X. S., Bao, X. Y., Guo,W., and Lee, F. Y., **2006**, Immobilizing Catalysts on Porous Material, *Materials Today*, Vol. 9, No. 3, p. 32
 - Syukri, Fischer, C. E., Alhmaideen, A. E., Yang Li, Zheng, Y., and Kuehn, F. E., **2008**, Modified MCM-41- Supported Acetonitrile Ligated Copper(II) and its Catalytic Activity in Cyclopropanation of Olefins, *Microporous and Mesoporous Materials*, 113, p. 171
 - Jal, P.K., Patel, S., and Mishra, B.K., Chemical modification of silica surface by immobilization of functional groups for extractive concentration of metal ions, Centre of Studies in Surface Science and Technology, *Department of Chemistry*, Sambalpur University, Jyoti Vihar 768 019, India.
 - Romano, S., **1982**, Vegetable Oils-a new alternative. Vegetable oils Fuels-proceedings of the International Conference on Plant and Vegetable Oils as Fuels, *ASAE publication* 4-82, Fargo, ND, USA, pp. 106-116
 - Mcmorn, P., and Hutching, G. J., *Chem. Soc. Rev*, **2004**, 33,, 108
 - Saito, T., **1996**, *Inorganic Chemistry*. Iwanami Shoten, Publishers: Tokyo.
 - Shuli, Y., Salley, S. O., and Simon K. Y., Simultaneous transesterification and esterification of unrefined or waste oils over ZnO-La₂O₃ catalysts, *Department of Chemical Engineering and Materials Science*, Wayne State University, Detroit, MI 48202, USA.
 - Sumangat, Djajeng dan Hidayat, T., **2008**, Karakteristik Metil Ester Minyak Jarak Pagar Hasil Proses Transesterifikasi Satu Dan Dua Tahap. *J.Pascapanen* 5(2), 18-26
 - Usman, T., Syahrul, M., Agus, K., and Winda, R., **2009**, Direct Trans - esterification of Palm Kernel with Methanol by Using Empty Palm Bunch Ash Catalyst, *The First International Seminar on Science and Technology*, Yogyakarta, (January 24, 2009).

PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK *Weisella paramesenteroides* ISOLAT DADIAH SEBAGAI ANTI DIARE PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Reno Purnama Zalni^a, Sumaryati Syukur^a, dan Endang Purwati^b

^a Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^b Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Jurusan Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas

e-mail: sumaryatisyukur@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The effect of probiotic *Weisella paramesenteroides* was isolated from dadiah may effect as antidiarrhea has been investigated. Dadiah is tradisonal food of west sumatera region. The purpose of the research is to determine the effect of using probiotic *Weisella paramesenteroides* from dadiah Sitingkai-Palupuah, Agam Sumatera Barat related to frequency of bowel, microflora usus and histolgi of villus ileum. The experiment was done with five treatments and two repeating.

The results of this experiment showing the use of probiotic *Weisella paramesenteroides* was different as significant interaction ($p < 0,01$). In reducing the frequency of bowel, microflora balance and the high of ileum villus also conformed. The use of probiotic *Weisella paramesenteroides* was able to reduce the frequency of bowel after 24 hours observation. The highest mean of LAB total colony by supplementation *E.coli* and *Weisella paramesenteroides* was 2×10^8 cfu/ml at $28,50 \times 10^7$ cfu/gr. The highest mean of *E.coli* total colony by supplementation *E.coli* only at $14,63 \times 10^7$ cfu/gr. And the highest measurement villus by *Weisella paramesenteroides* treated was 2×10^8 cfu/ml at 267,85 μ m.

Keywords: diarrhea, probiotic, *Weisella paramesenteroides*, microflora balance, villus of intestines

I. Pendahuluan

Diare adalah penyakit dengan gejala dan tanda-tanda buang air besar lebih sering dari biasanya atau lebih dari 3 kali dalam sehari dan bentuknya encer, bahkan dapat berupa seperti air saja, kadang disertai muntah¹.

Pencernaan memiliki mekanisme metabolisme dan cara yang ampuh untuk menghancurkan makanan, sekaligus kuman atau bakteri yang menyerang lambung. Dalam kondisi normal, segala macam kuman dapat dibunuh atau dikeluarkan tubuh lewat tinja. Namun, pada

kondisi tubuh menurun, kuman tidak bisa dilumpuhkan dan betah tinggal di dalam lambung dan menyebabkan keseimbangan mikroflora dalam pencernaan terganggu. Jika terjadi hal demikian akan menimbulkan berbagai macam penyakit termasuk diare².

Keseimbangan mikroflora normal usus halus sangat penting untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan. Keseimbangan mikroflora yang terganggu dapat diatasi dengan cara salah satunya mengkonsumsi makanan probiotik dan prebiotik, karena probiotik dapat menekan pertumbuhan

bakteri patogen dalam saluran pencernaan. Keseimbangan mikroflora tercapai jika perbandingan bakteri baik dengan bakteri jahat sebesar 85%: 15% atau 80%:20%.

Diare yang terjadi akan dapat merusak mukosa usus dan juga vili usus sehingga pertumbuhan dari vili usus dapat terganggu karena bakteri patogen didalam usus akan menghambat proses penyerapan pada vili usus halus.

Probiotik merupakan bakteri hidup bila dikonsumsi dalam jumlah cukup memberikan efek yang menguntungkan bagi tubuh yaitu menciptakan keseimbangan flora usus, sehingga dapat membantu mencegah dan mengobati kondisi patologis usus³. Bakteri yang mempunyai sifat probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL), efek antagonisme atau antibakteri BAL terdiri atas dua mekanisme, yaitu dengan menghasilkan senyawa metabolit primer seperti asam laktat, CO₂, diasetil, asetaldehida, dan hidrogen peroksida (H₂O₂) dan dengan menghasilkan bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri⁴. Aktivitas probiotik BAL sangat penting dalam mengatur keseimbangan ekosistem saluran pencernaan. BAL mampu menjaga keseimbangan komposisi mikroflora normal usus dan menstimulasi sistem kekebalan di usus. Dalam spektrum antimikroba, BAL mampu memperbaiki ketahanan tubuh terhadap bakteri patogen. Jadi dengan adanya bakteri probiotik di dalam mukosa usus dapat mencegah kolonisasi oleh bakteri patogen⁵.

Dadih merupakan produk pangan probiotik karena hasil fermentasi dan mengandung bakteri asam laktat⁶. Dadih adalah produk olahan susu kerbau yang terdapat di daerah Sumatera Barat. Produk ini sudah lama dikenal dan disukai pula oleh masyarakat setempat⁷.

Dadih mengandung zat-zat gizi yang diperlukan tubuh (khususnya protein dan lemak), dimana kandungan protein (6,30%), lemak (6,73%) dan vitamin A (80 SI)⁸. Dadih, susu fermentasi tradisional asal Sumatera Barat, mengandung bakteri laktat yang

berpotensi sebagai probiotik. Bakteri probiotik dalam susu fermentasi/dadih telah terbukti secara klinis dapat menyetatkan saluran pencernaan manusia⁹.

Dadih yang diambil adalah dadih yang berasal dari Kabupaten Agam jorong Sitingkai Kecamatan Palupuah. Dari isolasi yang telah dilakukan peneliti sebelumnya dadih ini mengandung bakteri asam laktat yaitu "*Weisella paramesenteroides*"¹⁰. Genus *Weisella* pertama kali ditemukan oleh Collin, berupa kokus gram positif, bersifat *obligate heterofermentative, catalase negative coccobacilli*, menghasilkan D-or DL isomer asam laktat sebagai produk utama fermentasi¹¹. *Weisella paramesenteroides* memproduksi 4450-Da class II bacteriocin yang dinamakan weisellin A yang bersifat resisten terhadap panas dan dapat digunakan dalam pasteurisasi dan sterilisasi makanan¹².

II. Metodologi Penelitian

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan : Timbangan elektrik merk ACS dengan ketelitian 0,01 gram dengan maksimal 200 gram untuk menimbang mencit putih jantan. Kandang mencit putih jantan (ukuran 30 X 20 X 10cm) 20 buah lengkap dengan tempat pakan dan minum. Nampan untuk menampung sampel feses. Plastik untuk *Jurnal Kimia Unand, Volume 1 Nomor 2 Tahun 2012* 50 alas nampan. Jarum sonde untuk memberikan probiotik dan EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*), pipet, mikroskop, mikrotom, kaca objek, silet/gunting, aluminium foil, keranjang metal, lumpang, lemari pendingin, keset processor, autoclave (Hirayama), Inkubator (Fisher), ependrof, bunsen, vortex, erlenmeyer, hockey steak.

Bahan yang digunakan : Mencit putih jantan *Mus musculus* (yang telah diadaptasi lebih kurang 7 hari). Bakteri *Weisella paramesenteroides* isolat dadih yang diperoleh dari Laboratorium Peternakan Universitas Andalas yang diberikan sesuai dosis yang telah ditentukan. Air minum dan makanan

mencit putih jantan. EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*) strain O157 yang diperoleh dari Laboratorium Peternakan Universitas Andalas.

2.2 Tahap Penelitian

Dosis Bakteri *Pediococcus pentosaceus* dan EPEC (*Enteropathogenik Escherichia coli*)

Bakteri di beri secara oral dengan jarum sonde ke mencit putih dari hari 1-21 hari. Dosis probiotik mulai dari 2×10^8 CFU/ml sampai 2×10^{10} CFU/ml dan dosis EPEC sebanyak 1×10^8 CFU/ml.

Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 5×4 dengan 2 ulangan. Sebagai faktor pertama (A) yaitu dosis pemberian probiotik dengan level tertentu yang terdiri dari :

1. A1 = Kontrol (diberi makan seperti biasa)
2. A2 = Pemberian EPEC (tanpa pemberian probiotik)
3. A3 = Pemberian EPEC dan probiotik dengan dosis 2×10^8 CFU/ml
4. A4 = Pemberian EPEC dan probiotik dengan dosis 2×10^9 CFU/ml
5. A5 = Pemberian EPEC dan probiotik dengan dosis 2×10^{10} CFU/ml

Sebagai faktor kedua (B) yaitu lama pemberian yang terdiri dari :

- a) B1 = Lama pemberian 0 Jam
- b) B2 = Lama pemberian 12 Jam
- c) B3 = Lama pemberian 24 Jam
- d) B4 = Lama pemberian 36 Jam

2.3 Cara Kerja

A. Pemberian EPEC untuk menginduksi diare pada mencit putih jantan.

1. Kultur EPEC didapat dari Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas.
2. Bakteri EPEC:O157 1×10^8 CFU/ml diberikan pada mencit putih jantan sebanyak 0,5 ml secara oral dengan menggunakan jarum sonde.

3. Kejadian diare pada mencit putih jantan dilihat dari frekuensi jumlah feses mencit putih.

B. Pemberian Bakteri Asam Laktat (*Weissella paramesenteroides*)

1. Kultur probiotik disimpan dalam gliserol pada suhu -4°C
2. Kultur disegarkan pada media MRS broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
3. Setelah 24 jam, kultur disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 12000 rpm.
4. Pemberian probiotik dilakukan secara oral ke mencit putih jantan satu persatu sesuai dengan dosis perlakuan.

C. Keseimbangan Mikroflora Usus

- a). Sterilisasi alat.
- b). Total Koloni BAL Dadih.

Langkah-langkah yang dilakukan dalam menghitung total koloni BAL adalah :¹³

1. Semua peralatan yang dibutuhkan seperti : cawan petri (*petridish*), tabung reaksi, Erlenmeyer, *eppendorf*, tip pipet mikro, *hockey stick*, disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 lbs.
2. Dengan menggunakan sendok steril dan *aluminium foil* bagian ileum mencit ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan 9 ml larutan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) *Broth*, lalu divortex sampai homogen. Hasil ini disebut pengenceran 10^{-1}
3. Hasil pengenceran tersebut diambil 1000 μl dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) *Broth*, lalu divortex sampai homogen. Hasil pengenceran ini disebut dengan pengenceran, 10^{-2} begitu seterusnya sampai pada pengenceran 10^{-5}
4. Dari pengenceran 10^{-5} diambil 100 μl sampel dan ditanam dengan metode *spread* pada *petridish* yang telah berisi media MRS Agar beku dengan mikro pipet 100 μl , kemudian diratakan dengan *hockey stick* yang sebelumnya telah diberi alkohol dan dibakar dengan api, semuanya dikerjakan di dalam *lamina flow* dan di dekat bunsen.

5. Inokulum disimpan dalam *anaerob jar* lalu dimasukkan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C dan dilakukan pengkodean *petridish* dengan menandai masing-masing *petridish*.
6. Setelah 24 jam, koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan menggunakan alat *quebec colony counter*. Hasil perhitungan digunakan rumus CFU dibawah ini:
8. Irisan diletakkan di atas permukaan air biasa dan diusahakan tidak melipat. Dipindahkan sebentar pada permukaan air hangat suhu 45°C untuk menghilangkan kerutan kecil pada jaringan.
9. Ditempelkan pada objek glass yang sudah diolesi putih telur dan dibiarkan kering sampai saat akan diwarnai.

Total koloni BAL (CFU/Colony Forming Unit)/gram):

$$\text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Pengenceran}} \times \frac{1}{\text{Berat Sampel}}$$

D. Histologi Vili Usus Mencit

a. Prosedur pembuatan preparat vili usus halus :¹⁴

1. Mencit dikorbkan dengan pembiusan menggunakan kloroform.
2. Pengambilan jaringan segar, mencit dipotong dan dikeluarkan bagian organ dalamnya, diambil usus halus yaitu bagian ileum sepanjang 5 cm.
3. Usus dilakukan pembelahan agar berbentuk lembaran
4. Bagian yang berbentuk lembaran dijepit diatas plastic tebal dan di fiksasi kedalam formalin 10% selama 24 jam.
5. Jaringan tadi dimasukkan kedalam keset processor dan kedalam alat Rotary Tissue Processor. Dimana didalam alat ini jaringan tadi direndam dalam larutan alcohol 70% selama 2 jam, alcohol 80% selama 2 jam, alcohol 95% I selama 2 jam, alcohol 95% II selama 1 jam, absolute I, absolute II, absolute III masing-masing selama 1 jam, xylen I, xylen II, xylen III, masing-masing 1 jam, paraffin panas I selama 2 jam dan paraffin panas II selama 9 jam. Dimana totalnya selama 24 jam.
6. Kemudian setelah itu di blok atau dicetak dalam paraffin dengan menggunakan alat tissue embedding center, masukkan dalam freezer supaya paraffin membeku.
7. Setelah itu dilakukan pemotongan atau diiris setipis 5 mikron dengan alat mikrotom.

10. Preparat disusun dalam keranjang metal, kemudian direndam dalam xylol I, xylol II, xylol III masing-masingnya selama 10 menit. Kemudian pindahkan dalam alcohol absolute I, absolute II selama 10 menit.

11. Direndam dalam air kran mengalir selama 1 menit. Setelah itu diwarnai dengan Harri's Hematoksin selama 7 menit. Kemudian rendam didalam air kran selama 1 menit.
12. Kemudian rendam dalam larutan scott selama 1 menit. Kemudian rendam lagi dalam air mengalir selama 1 menit.
13. Kemudian rendam dalam larutan eosin selama 5 menit, dibilas dengan air mengalir selama 1 menit.
14. Dichelupkan dalam larutan alcohol 95%, 96%, absolute I, absolute II kira-kira 10 celupan.
15. Masukkan dalam xylol I, xylol II, selama 3 menit, dan masukkan lagi dalam xylol III selama 5 menit.
16. Diangkat dan ditetesi dengan Kanada balsam lalu ditutup dengan cover glass.
17. Terakhir diperiksa dan diamati dibawah mikroskop optic.

b. Pengukuran tinggi vili usus halus

Pengukuran tinggi usus halus dilakukan dengan mikroskop cahaya atau optic yang diukur dari garis atas muskularis mukosa sampai puncak vili.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Frekuensi Buang Air Besar (BAB) mencit putih dengan beberapa perlakuan

Hasil analisa statistik menunjukkan ada interaksi sangat nyata ($p < 0,01$) antara faktor A (dosis pemberian) dan faktor B (lama

pemberian) terhadap frekuensi feses mencit uji, terlihat pada tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan interaksi yang sangat nyata antara faktor A (dosis pemberian) dengan faktor B (lama pemberian) terhadap frekuensi feses mencit uji ($p < 0,01$). Frekuensi feses mencit uji paling tinggi terdapat pada faktor A2 (pemberian EPEC saja) dengan rerata 33,375.

Tabel 1. Rerata Frekuensi BAB Mencit dengan Beberapa Perlakuan (kali).

Faktor A (i)	Faktor B (j)				Total (y _{i.})	Rerata
	B1	B2	B3	B4		
A1	4,00 ^g	5,00 ^g	4,50 ^g	5,00 ^g	18,50	4,63
A2	5,00 ^g	50,50 ^a	41,00 ^b	37,00 ^c	133,50	33,38
A3	5,50 ^g	48,50 ^a	16,50 ^e	11,00 ^f	81,50	20,38
A4	5,00 ^g	30,50 ^d	20,00 ^e	16,00 ^e	71,50	17,88
A5	5,50 ^g	28,50 ^d	12,50 ^f	11,00 ^f	57,50	14,38
Total (y _{.j.})	25,00	163,00	94,50	80,00	362,50	90,63
Rata-rata	5,00	32,60	18,90	16,00	72,50	18,13

Keterangan : Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan baris yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Gambar 1. Feses mencit yang diinfeksi *E.coli*,

Feses mencit uji terendah terdapat pada perlakuan A1. Hal ini dikarenakan pada A1 mencit uji tidak diberi *E.coli* dengan kata lain mencit uji A1 dalam keadaan normal dimana feses mencit dari 0 jam sampai 36 jam hampir sama. Semua mencit uji yang diinfeksi dengan *E.coli* cenderung mengalami diare pada jam ke 12. Pada mencit uji A3, A4 dan A5 pada jam ke 24 terjadi penurunan jumlah feses hal ini karena pada saat diare mencit A3, A4 dan A5 diberi *Weisella paramesenteroides* berturut-turut 2×10^8 , 2×10^9 dan 2×10^{10} cfu/ml sehingga pada jam 24 (B3) feses dari masing-masing perlakuan mengalami penurunan yang tajam.

3.2 Keseimbangan Mikroflora Usus Mencit Putih Jantan

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa adanya interaksi yang sangat nyata $P < 0,01$ antara faktor A (dosis) dan faktor B (lama pemberian) terhadap rerata keseimbangan mikroflora usus mencit yang terdiri total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), total koloni *Escherichia coli* dan total koloni bakteri aerob.

A. Total Koloni BAL (Bakteri Asam Laktat)

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa ada interaksi yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara faktor A dan faktor B terhadap jumlah koloni BAL di ileum mencit uji. Masing-masing faktor juga memperlihatkan pengaruh yang nyata ($p < 0,01$) terlihat pada Tabel 2.

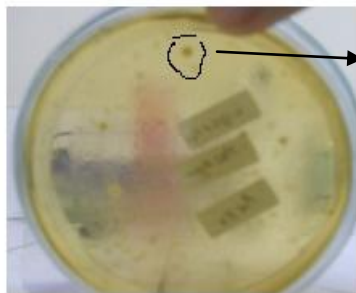
Tabel 2. Rerata total koloni BAL pada usus mencit dengan beberapa perlakuan ($\times 10^7$ cfu/gr)

Faktor A (i)	Faktor B (j)				Total (y _{i.})	Rerata
	B1	B2	B3	B4		
A1	4,00 ^e	4,50 ^e	4,00 ^e	4,00 ^e	16,50	4,13
A2	4,00 ^e	6,50 ^e	1,50 ^e	5,00 ^e	17,00	4,26
A3	5,50 ^e	6,50 ^e	44,50 ^b	57,50 ^a	114,00	28,50
A4	4,50 ^e	5,50 ^e	53,50 ^a	15,50 ^d	79,00	19,75
A5	4,50 ^e	4,50 ^e	53,00 ^a	25,50 ^c	87,50	21,88
Total (y _{.j.})	22,50	27,50	156,50	107,50	314,00	78,50
Rata-rata	4,50	27,50	31,30	21,50	62,80	15,70

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan baris yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0.01$).

Jumlah koloni BAL meningkat secara nyata dengan pemberian probiotik *Weisella paramesenteroides* yaitu pada perlakuan A3, A4 dan A5. Perlakuan A3, yaitu pemberian *Weisella paramesenteroides* 2×10^8 cfu/ml memberikan peningkatan jumlah koloni BAL paling tinggi terhadap kontrol negatif dan kontrol positif (tanpa pemberian *Weisella paramesenteroides*).

Pada penelitian membuktikan kalau BAL merupakan bakteri probiotik isolat dadiah dapat bertahan hidup dalam saluran pencernaan (lambung dan usus halus) setelah dikonsumsi¹⁵.



Koloni BAL yang tumbuh pada media MRS agar yang ditandai koloni warna putih

Gambar 2 Koloni BAL yang tumbuh pada media MRS agar .

B.Total Koloni Escherechia coli

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa ada interaksi ($p < 0,01$) antara faktor A dan faktor B terhadap jumlah koloni *E.coli* mencit uji di ileum. Masing- masing faktor juga memperlihatkan pengaruh yang nyata ($p < 0,01$). Rerata jumlah koloni *E.coli* pada ileum dapat dilihat pada table 3.

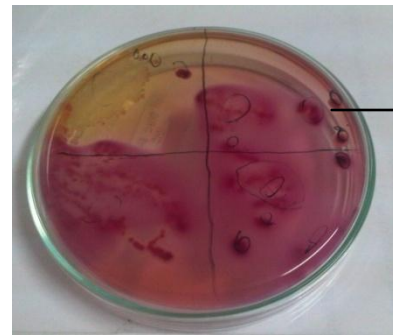
Tabel 3. Rerata total koloni *Escherichia.coli* pada usus mencit dengan beberapa perlakuan ($\times 10^7$ cfu/gr).

Faktor A (i)	Faktor B (j)				Total (yi..)	Rerata
	B1	B2	B3	B4		
A1	5,50 ^c	6,00 ^c	7,00 ^c	5,50 ^c	24,00	6,00

A2	6,00 ^c	20,50 ^a	19,50 ^a	12,50 ^b	58,50	14,63
A3	6,50 ^c	3,00 ^d	2,50 ^d	1,50 ^d	13,50	3,38
A4	4,50 ^c	3,00 ^d	3,50 ^c	2,50 ^d	13,50	3,38
A5	6,00 ^c	4,50 ^c	4,00 ^c	3,50 ^c	18,00	4,50
Total (y.j.)	28,50	37,00	36,50	25,50	127,50	31,88
Rata-rata	5,70	7,40	7,30	5,10	25,50	6,38

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan baris yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0.01$).

Berdasarkan tabel 3 pada setiap perlakuan yang memberikan hasil terbaik dalam menurunkan koloni *Eschericia coli* adalah perlakuan A3 dan A4 (pemberian *Weisella paramesenteroides* dengan dosis 2×10^8 dan 2×10^9 cfu/ml) sedangkan perlakuan A2 (hanya pemberian *E.coli* saja) jumlah koloni lebih tinggi. Faktor B juga mempengaruhi jumlah koloni *E.coli* dilihat tabel 5 pada waktu 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam semakin menurun karena pertumbuhan *E.coli* dapat ditekan dan menyebabkan kondisi pH usus menjadi lebih asam, sehingga *E.coli* tidak mampu bertahan hidup.



Koloni *E.coli* yang tumbuh pada media Macconkey ditandai dengan warna merah pada

Gambar 3. Koloni yang tumbuh pada media Macconkey.

Probiotik menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH sehingga dapat menghalangi pertumbuhan bakteri patogen dan menghasilkan bakteriosin¹⁶.

C. Total Koloni Aerob

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa ada interaksi ($p < 0,01$) antara faktor A dan

faktor B terhadap jumlah koloni aerob. Masing-masing faktor juga menunjukkan pengaruh yang nyata. Total koloni bakteri aerob yang paling banyak tumbuh terdapat pada perlakuan A2 (pemberian *E.coli* saja) pada jam ke 24 kemudian ke jam 36.

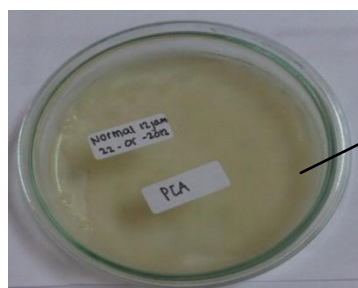
Rerata jumlah koloni bakteri aerob pada ileum usus mencit uji selama penelitian dapat dilihat pada tabel 4.

Pertumbuhan koloni bakteri aerob pada media PCA ini menunjukkan tidak hanya bakteri *E.coli* saja yang ada pada ileum mencit tapi juga ada bakteri yang lain.

Tabel 4. Rerata total koloni bakteri aerob pada usus mencit dengan beberapa perlakuan ($\times 10^7$ cfu/gr).

Faktor A (i)	Faktor B (j)				Total (y _{i.})	Rerata
	B1	B2	B3	B4		
A1	10,50 ^b	12,00 ^b	10,50 ^b	13,50 ^b	46,50	11,63
A2	11,00 ^b	8,00 ^b	33,00 ^a	32,00 ^a	84,00	21,00
A3	8,00 ^b	9,00 ^b	4,00 ^b	2,50 ^b	23,50	5,88
A4	6,50 ^b	4,50 ^b	13,50 ^b	10,50 ^b	35,00	8,75
A5	7,50 ^b	12,00 ^b	9,00 ^b	5,00 ^b	33,50	8,38
Total (y _{j.})	43,50	45,50	70,00	63,50	222,50	55,63
Rata-rata	8,70	9,10	14,00	12,70	44,50	11,13

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan baris yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Koloni bakteri aerob yang tumbuh pada media PCA

Gambar 4. Koloni bakteri aerob yang tumbuh pada media PCA.

Pada keadaan normal usus mencit masih mengandung bakteri dan jauh beda dengan mencit yang telah diinfeksi dengan *E.coli* hanya saja jumlah koloni yang tumbuh pada mencit yang diinfeksi dengan *E.coli* lebih tinggi dibandingkan dengan keadaan normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Hidayat kalau bakteri yang ada di usus sekitar 10^{14} cfu dan lebih dari 400 spesies yang secara bersama-sama dapat mencapai berat 1,0-1,5 kg¹⁷.

3.3 Histologi Vili Usus Mencit Putih (*Mus musculus*)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada interaksi ($p > 0,01$) antara faktor A dan faktor B terhadap tinggi villi usus mencit uji. Masing-masing faktor juga memperlihatkan pengaruh yang nyata ($p < 0,01$) terlihat pada tabel 5. Hasil keragaman menunjukkan bahwa tinggi vili ileum tidak dipengaruhi oleh interaksi antara faktor A dengan faktor B.

Tabel 5. Rerata tinggi vili ileum mencit beberapa perlakuan (μ m).

Faktor A (i)	Faktor B (j)				Total (y _{i.})	Rerata
	B1	B2	B3	B4		
A1	222,42 ^l	222,02 ⁿ	230,98 ^j	233,31 ⁱ	908,74	227,18
A2	223,73 ^k	108,66 ^s	182,75 ^p	233,45 ^h	748,59	187,15
A3	250,64 ^g	133,43 ^r	312,83 ^d	374,51 ^a	1071,41	267,85
A4	222,34 ^m	145,36 ^q	258,37 ^f	328,13 ^c	954,20	238,55
A5	209,98 ^o	104,17 ^t	301,08 ^e	349,60 ^b	964,83	241,21
Total (y _{j.})	1129,10	787,73	1211,92	1519,00	4647,76	1161,95
Rata-rata	225,82	157,55	242,38	303,80	929,55	232,39

Keterangan : Superskrip pada kolom dan baris diurut dari besar kekecil dan menunjukkan beda sangat nyata ($p < 0,01$)

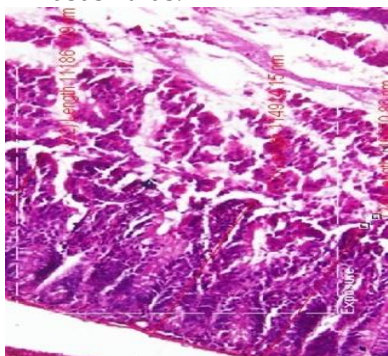
Berdasarkan data Tabel 5 diatas , dari ke 5 perlakuan tinggi vili ileum mencit uji pada perlakuan A3 yaitu pemberian probiotik

Weissella paramesenteroides 2×10^8 cfu/ml memberikan peningkatan pada tinggi vili ileum terhadap kontrol negatif (normal) dan kontrol positif (hanya pemberian *E.coli* saja). Pada faktor B juga terdapat peningkatan tinggi vili ileum mencit uji dari jam 0 ke jam 36. Tabel 5 menunjukkan bahwa tinggi vili akan berbeda nyata setiap jamnya walaupun tidak dipengaruhi oleh pemberian *E.coli* maupun pemberian probiotik *Weissella paramesenteroide* hal ini disebabkan karena sel-sel vili senantiasa mengalami pertumbuhan.



Gambar 5. Vili ileum mencit yang diberi *Weissella paramesenteroides* 2×10^8 cfu/ml

Keadaan vili ileum A2 paling rendah dibandingkan dari perlakuan lainnya hal ini disebabkan pada A2 hanya diberi *E.coli* jadi keberadaan bakteri patogen didalam usus akan menghambat proses penyerapan pada vili usus halus.



Gambar 6. Vili ileum diberi EPEC

Keadaan diare dapat merusak mukosa usus dan juga vili usus sehingga pertumbuhan dari

vili usus dapat terganggu. Dadih mengandung protein lengkap yang mengandung hampir semua asam amino essensial guna keperluan pertumbuhan. Protein ini dapat berfungsi untuk pertumbuhan dan perbaikan sel-sel yang rusak termasuk untuk penambahan tinggi vili usus halus¹⁸.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil yang didapatkan, maka disimpulkan bahwa :Pemberian EPEC strain O₁₅₇ secara nyata membuat mencit uji diare. Pemberian *Weissella paramesenteroides* secara nyata dapat menurunkan frekuensi buang air besar setelah 24 jam. Pemberian *Weissella paramesenteroides* secara nyata memperbaiki keseimbangan mikroflora usus mencit uji. Pemberian *Weissella paramesenteroides* secara nyata meningkatkan tinggi vili ileum mencit uji

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada pihak-pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian ini.

Referensi

1. Anwar, D., 2008, Hubungan kondiasi sarana pembuangan tinja terhadap kejadian diare di wilayah kerja puskesmas lubuk sikaping Kabupaten Pasaman Barat. Skripsi Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas: Padang.
2. Widjaja, M,C, 2003, Mengatasi Diare dan Keracunan pada Balita, *Kawan Pustaka*, Jakarta Selatan.
3. Firmansyah, A., 2001, Terapi probiotik dan prebiotik pada penyakit saluran cerna anak. *Sari pediatric* ;2:210-4.
4. Kaur, I.P., Chopra, K., dan Saini, A., 2002, Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur. J.Pharm. Sci.* 15, 1-9.

5. Sudarmo S. M., **2003**, Peranan Probiotik dan Prebiotik Dalam Upaya Pencegahan dan Pengobatan Diare Pada Anak. Dalam: *Kongres Nasional II BKGAI*. Bandung: BKGAI; 115-131.
6. Sugitha, I. M. dan Lucy, A. A., **1998**, Daya cerna dadih yang dibuat dengan penambahan starter *Lactococcus lactis* subsp *lactis* dalam tabung plastik. *Jurnal Peternakan dan Lingkungan* Vol. 4. No. 3. Edisi Oktober. Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang.
7. Surono, I. S., Jenny, K.D., Tomomatsu, A. Matsuyama, A., and Hosono, A., **1984**, Higher Plant Utilization as Coagulant for Making Native Milk Products in Indonesia. In: *Traditional Food Fermentation as Industrial Resources in ASCA Countries*. S. Saono (ed.). *Elsevier Applied Science Publishers Ltd.*, London.
8. Purwati. E, Rusfidra, Armadyan, Indri Juliyarsi, dan Purwanto, H. **2010**, Plasma Nuftah Sumatera Barat: Dadih sebagai pangan fungsional probiotik menunjang kesehatan masyarakat. Bogor: *Cendekia Publishing House*;
9. Ghozi, F., Hanni D. E., Benmechernenez, Kihal M., **2009**, Phenotypic and whole cell protein analysis by SDS-PAGE for identification of dominants lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. *World J of Dairy and Food Sci* ; 4(1): 78-87.
10. Sumarni, Putri, I., **2011**, Pengaruh Efektifitas Bakteri Asam Laktat Terhadap Kualitas Mikrobiologis Dan Daya Simpan Dadih Di Beberapa Daerah Di Sumatra Barat. *Skripsi Sarjana Peternakan*, Universitas Andalas :Padang.
11. Collins, M. D., Samelis, J., Metaxopoulos, J. & Wallbanks, S, **1993**, Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J Appl Bacteriol* 75, 595±603.
12. Papagianni, M., and Papamichael E. M., **2011**, Purification, amino acid sequence and characterization of the class Iia bacteriocin weissellin A, produced by *Weissella paramesenteroides* DX. *Bioresource Technology* ;102:6730-4.
13. Purwati., Syukur, S., Hidayat, Z., **2005**, *Lactobaillus sp.* Isolasi dari Bio Virco Phitomega Sebagai Probiotik. *Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia*. Jakarta. 24-25 Januari 2005.
14. Balai Penyelidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV), **2005**, *Metoda Pewarnaan Hematoxyline Eosin*. Laboratorium BPPV Regional II Bukittinggi.
15. Roberfroid M. B., **2000**, Prebiotics and Probiotics: Are They Functional Food?. *Am J Clin Nutr* :71:1682-7.
16. Purwati, E., dan Syukur, S., 2006, Peranan Pangan Probiotik untuk Mikroba Patogen dan Kesehatan. *Dharma wanita Persatuan Propinsi Sumatera Barat*. Padang. 8 Agustus 2006.
17. Hidayat, N., Nurika, I., Agustin, W. P., **2006**, Membuat Minuman Prebiotik dan Probiotik. *Penerbit Trubus Agrisarana*, Surabaya
18. Langhout, P. **2000**, New Additives for broiler chicken. *Feed Mix. The International Journal on feed, Nutrition and Technology* 9(6):24-27 .

SINTESIS DAN KARAKTERISASI KOMPOSIT YANG BERBAHAN DASAR KITOSAN, SILIKA DAN KALSIUM FOSFAT

Rido Junaidi, Syukri Arief, Syukri

Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: Syukriarief@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Synthesis and characterization of chitosan-based composite, silica and calcium phosphate have been conducted. The purpose of this research was to study of the effect of pH and chitosan on the composite character. Synthesis of materials have carried out by sol-gel method. The optimum pH for this process was pH = 5. Composite was synthesized using a variation of chitosan: (0.15, 0.25, and 0.35 g in 34 mL mixture). From optical microscope photographs can be seen the uniformity of the composite particle obtained from this research decrease as the chitosan content increase. FTIR show at the availability functional group -OH and -NH of chitosan, phosphate, and Si-OH and Si-O-Si of silica. The PSA analysis showed that there was no effect of the amount of chitosan on to the change of particle size.

Keywords: composites, sol-gel method, chitosan

I. Pendahuluan

Pemanfaatan dan pengembangan penelitian terhadap material alam hasil samping yang tidak dimanfaatkan atau dikenal juga dengan limbah atau sisa dari hasil pemanfaatan produk pokoknya terus dikembangkan, seperti: cangkang udang, cangkang telur, tongkol jagung, sekam padi dan kulit kerang. Adapun tujuan dari pemanfaatan ini adalah untuk mendapatkan produk yang lebih berguna, produk yang dapat diperbaharui, peningkatan mutu produk sehingga menambah nilai jual secara ekonomis dan dapat dimanfaatkan oleh manusia untuk kesejahteraan manusia itu sendiri. Kemudian juga untuk mengurangi pencemaran lingkungan oleh material-material organik tersebut, sehingga terus dilakukan penelitian dan pengembangan. Baik untuk menghasilkan

energi, komposit, membran dan lain sebagainya.

Karena permasalahan diatas maka beberapa dekade terakhir kemajuan dalam teknologi membran pada bidang industri, biologi, kimia dan fisika banyak dikembangkan. Karena memiliki prospek yang besar kedepannya untuk menjawab permasalahan pencemaran lingkungan oleh pabrik - pabrik, limbah rumah tangga, dan dapat dimanfaatkan juga dalam dunia medis. Adapun membran dapat digunakan, seperti untuk penyaringan air, penyerapan ion logam dan dalam dunia medis (salah satunya untuk perekatan atau pengganti tulang).

Membran yang cukup banyak dikembangkan adalah membran yang berbahan dasar kitosan karena memiliki begitu banyak kelebihan yaitu bahan pembuatan kitosan sangat melimpah,

bahkan kalau tidak dimanfaatkan dapat menimbulkan pencemaran lingkungan dan bersifat fatal untuk manusia. Kemudian dari segi pembuatan relatif mudah dan sederhana. Pembuatan membran kitosan ini tidak memerlukan kondisi yang ekstrim seperti tekanan atau temperatur yang tinggi.

Kitosan adalah material biopolimer yang memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan, dengan cara dimodifikasi secara kimia dan mekanik yang dapat menghasilkan sifat baru, fungsi dan aplikasi yang luas. Kitosan juga berasal dari material yang secara alami melimpah di alam dan polimer yang dapat diperbaharui, yang mempunyai sifat seperti *bio-degradability*, *bio-compatibility*, *non-toxicity*, inert, dan adsorpsi, kemudian juga memiliki sifat yang aktif sebagai anti mikroba.^{1,2,3} Karena sifat-sifat dan kelebihan-kelebihan yang dimiliki kitosan diatas, maka sangat menarik untuk dikembangkan, diteliti, dimodifikasi dan dianalisis.

Salah satu kendala yang ditemukan untuk pemanfaatan kitosan adalah kelarutan yang terbatas pada kitosan sehingga menyebabkan keterbatasan dalam aplikasinya. Modifikasi dilakukan terhadap gugus hidroksil dan amina pada unit glukosamin pada kitosan. Pengikatsilangan kitosan adalah solusi yang dapat ditawarkan untuk mengatasi permasalahan sifat mekanik dari kitosan. Penambahan silika ke dalam biomaterial dapat meningkatkan permeabilitas terhadap oksigen, *bio-compatibility*, dan *bio-degradability* serta ketahanan fisik terhadap suhu tinggi.^{4,5} Prekursor sumber silika dapat dihasilkan dari proses hidrolisis TEOS.

Kalsium fosfat merupakan jenis mineral yang sering diaplikasikan dalam bidang medis dan kedokteran gigi sebagai material buatan untuk menggantikan mineral jaringan tulang. Karena mempunyai komposisi dan kristalisasi yang hampir mirip dengan tulang manusia. Selain itu juga sifatnya yang tidak beracun, bioaktif, dan terserap dengan baik (resorpsi)

menjadikan kalsium fosfat material biokeramik yang dikenal luas.

Jadi diharapkan dengan bahan dasar ini yaitu kitosan, TEOS dan kalsium fosfat dapat menghasilkan suatu komposit yang dapat digunakan untuk bahan pembuatan membran yang *bio-compatible*. Dimana kitosan dapat dikatakan sebagai material untuk menghasilkan sifat kelenturan, silika untuk pori dan kalsium fosfat untuk penguat.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cangkang telur, kitosan, TEOS, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, HNO_3 2M, asam asetat 1%, HCl 1N, H_3PO_4 2M, NaOH 2M, aquadest, CaO dan metanol.

Peralatan yang digunakan adalah Peralatan gelas kimia, kertas pH universal, kertas saring, *hotplate stirrer*, milling gerinder dan pompa vakum.

Instrumen yang digunakan adalah *Fourier Transformation Infra Red* (FT-IR) (Jascn FTIR 460 plus), *Nano Laser Particle Size Analyzer* (NL-PSA) (Fritszh Analysette 22 Wet Dispersion Unit, Nano Tech Plus), dan Foto Optik.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Pembuatan CaO dari cangkang telur sebagai sumber Ca pada pembuatan kalsium fosfat

Siapkan cangkang telur. Bersihkan cangkang dari membran dan kotoran makro dengan air. Keringkan pada temperatur ruang. Haluskan dengan peralatan milling gerinder, setelah halus lakukan sintering selama 5 jam pada suhu 1000°C . Dinginkan, maka didapatkan CaO.

2.2.2 Pembuatan kalsium fosfat

Kalsium fosfat dibuat dengan mereaksikan kalsium (Ca) dan fosfat (P). Dimana sumber Ca diperoleh dari hasil kalsinasi cangkang telur dan sumber fosfat diperoleh dari asam fosfat (H_3PO_4).

Sumber Ca dari cangkang telur sebanyak 3 gr, kemudian ditambahkan 16 ml asam fosfat 2M dan selanjutnya distirer selama 30 menit. Kemudian disaring dengan pompa vakum dan dikeringkan dengan oven pada suhu 110°C.

2.2.3 Pembuatan komposit

2.2.3.1 Pembuatan komposit dengan komposisi hasil komposit yang bagus pada peneliti sebelumnya, variasi TEOS (11 dan 22mL), variasi pelarut yang digunakan untuk melarutkan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dan Kitosan (asam asetat 1%/HCl), dan variasi pH pada pelarutan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (pH 0, 3, 4, 5, 6, dan 7)
Ca₃(PO₄)₂ sebanyak 0,75 gr, kemudian ditambahkan HNO₃ 2M sebanyak 5 mL. Distirer selama 30 menit (larutan A). Disiapkan larutan TEOS. Diukur TEOS sebanyak 11 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest 9 mL. Distirer selama 30 menit (larutan B). Kemudian dicampurkan larutan A kedalam larutan B, distirer selama 30 menit (larutan C). Disiapkan larutan kitosan dengan menimbang kitosan sebanyak 0,25 gr, kemudian dilarutkan dalam 5 mL asam asetat 1%. Distirer selama 30 menit (larutan D). Dicampurkan larutan D dengan larutan C dengan perbandingan 1:3 (larutan E), distirer selama 30 menit. Kemudian ditambahkan metanol dengan perbandingan larutan E dengan metanol 20:25. Distirer selama 30 menit. Kemudian disaring, endapan dimasukkan kedalam cetakkan. Dikeringkan dalam desikator.

2.2.3.2 Pembuatan komposit dengan variasi pH campuran akhir (pH 5, 7 dan 9) dan variasi kitosan (0,15, 0,25, dan 0,35 gr)

Sebanyak 0,75 gr Ca₃(PO₄)₂, kemudian ditambahkan aquadest 5 mL. Distirer selama 1 jam (larutan A). Disiapkan juga larutan TEOS. Diukur TEOS sebanyak 11 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest 9 mL dengan penambahan setetes asam nitrat 2M. Distirer selama 1 jam (larutan B). Kemudian dicampurkan larutan A kedalam larutan B, distirer selama 30 menit (larutan C). Disiapkan larutan kitosan dengan menimbang kitosan sebanyak 0,25 gr, kemudian dilarutkan dalam 5 mL asam asetat 1%. Distirer selama 30 menit (larutan

D). Dicampurkan larutan D dengan larutan C dengan perbandingan 1:3 (larutan E), distirer sampai membentuk gumpalan. Kemudian ditambahkan metanol dengan perbandingan larutan E dengan metanol 20:25 dan diatur pH 5, 7 dan 9 dengan penambahan NaOH 2M. Distirer selama 30 menit. Kemudian dimasukkan kedalam cetakkan. Dikeringkan dalam desikator.

2.2.4 Karakterisasi sampel

Sampel dikarakterisasi dengan beberapa alat karakterisasi diantaranya analisis foto optik, FTIR, dan PSA. Analisis foto optik untuk melihat bentuk permukaan sampel. Analisis FTIR bertujuan untuk mengetahui serapan pada angka gelombang yang menunjukkan adanya gugus -OH dan -NH dari kitosan, silika dan fosfat. Karakterisasi PSA dilakukan untuk mengetahui ukuran partikel dan persentase sebaran ukuran partikel.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pembuatan Komposit Kitosan, Silika dan Kalsium Fosfat

Komposit kitosan, silika dan kalsium fosfat, diperoleh dengan hasil pencampuran kitosan, silika (TEOS sebagai prekursor) dan kalsium fosfat. Kalsium fosfat terlebih dahulu dibuat dengan menggunakan Ca yang diperoleh dari hasil sintering cangkang telur, kemudian dicampurkan dengan asam fosfat (H₃PO₄).

Penelitian dilakukan, pertama TEOS ditambahkan aquadest, dimana antara TEOS dengan aquadest membentuk bidang batas yang menandakan TEOS tidak larut dalam air. Maka untuk melarutkan TEOS dalam aquadest ditambahkan setetes asam nitrat (HNO₃) 2M, kemudian distirer selama 1 jam. Perbandingan molar antara TEOS dan aquadest adalah 1:10. Larutan TEOS dicampurkan dengan kalsium fosfat yang telah ditambahkan aquadest dan distirer selama 1 jam, sehingga didapatkan campuran dalam bentuk sol. Campuran ini ditambahkan ke dalam kitosan yang telah dilarutkan dalam asam asetat 1% yang

berbentuk gel, dengan perbandingan campuran berupa sol dengan kitosan 3:1. Kemudian distirer sampai membentuk gumpalan, hal ini menandakan terjadinya reaksi antara kitosan dan campuran yang berupa sol, untuk menghomogenkan gumpalan yang cukup keras ini dan agar dapat dicetak, selanjutnya ditambahkan metanol dengan perbandingan 20:25, didapatkan campuran kental. Hasil akhir campuran tidak dilakukan penyaringan, karena campuran akhir yang diperoleh campuran kental yang homogen. Metanol digunakan sebagai pelarut. Kemudian dimasukkan kedalam cetakan, dan dikeringkan dalam desikator. Maka didapatkan hasil dengan variasi kitosan 0,15 gr pada pH 5 (gambar 1). Dimana memiliki kelebihan yaitu: dapat dibentuk, kehomogenan dan kerapuhan. Maka sampel ini dilakukan uji selanjutnya yaitu dengan menggunakan alat karakterisasi FTIR, PSA, dan foto optik.



Gambar 1. Hasil pembuatan komposit dengan variasi kitosan 0,15 gr

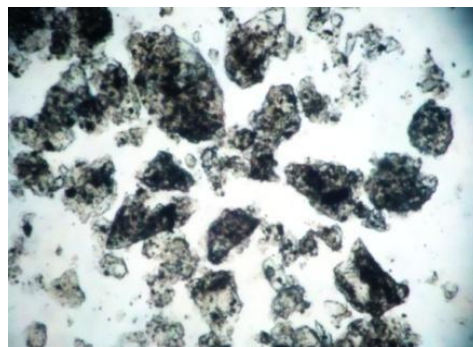
4.2 Karakterisasi sampel

4.2.1 Visualisasi hasil partikel komposit

Analisa foto optik dilakukan untuk melihat bentuk permukaan sampel padat yang berupa komposit kitosan, silika (TEOS sebagai prekursor silika), dan kalsium fosfat, kemudian melihat sebaran partikel pada komponen penyusun komposit. Sampel yang dianalisis yaitu sampel dengan variasi kitosan 0,15 gr. Hasil analisa dengan foto optik dapat dilihat pada gambar 2.

Pengukuran dilakukan pada perbesaran 40x.

Dari gambar 2 bentuk permukaan dari komposit memperlihatkan ukuran partikel yang cukup seragam.



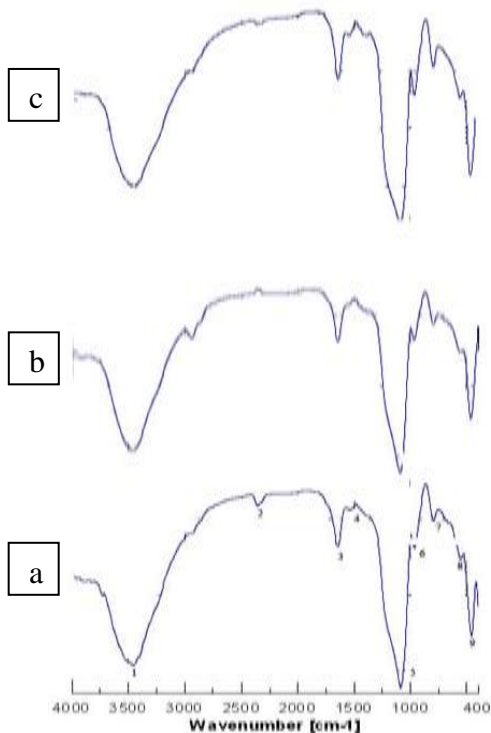
Gambar 2. Bentuk permukaan hasil foto optik sampel dengan variasi kitosan 0,15 gr dengan perbesaran 40x.

4.4.2 Pengukuran dengan FTIR

Analisis dengan menggunakan FTIR bertujuan untuk melihat gugus fungsi yang mengalami absorpsi pada panjang gelombang tertentu. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran untuk sampel dengan variasi kitosan 0,15, 0,25 dan 0,35 gr. Pada jangkauan panjang gelombang 400 – 4000 cm^{-1} . Pengukuran komposit ini diharapkan munculnya puncak untuk mengidentifikasi gugus fungsi kitosan yang mengandung gugus fungsi amina dan hidroksi, kemudian mengidentifikasi gugus fosfat dan silika.

Hasil analisis FTIR sampel dengan variasi kitosan 0,15, 0,25 dan 0,35 gr adalah sama untuk daerah serapan (gambar 3). Pita absorpsi pada panjang gelombang 3456 cm^{-1} (no 1 pada gambar 3) menunjukkan ada gugus -OH dan -NH *stretching*. Pita serapan pada daerah panjang gelombang 1642 cm^{-1} (no 3 pada gambar 3) menunjukkan adanya gugus -C=O, hal ini berdasarkan referensi yang menunjukkan gugus -OH dan -NH memiliki pita absorpsi pada panjang gelombang berkisar antara 3250 – 3500 cm^{-1} , dan -C=O memiliki pita serapan 1600 – 1800 cm^{-1} .⁷ Pita absorpsi fosfat ditunjukkan oleh no 5 dan 8 yaitu pada panjang gelombang

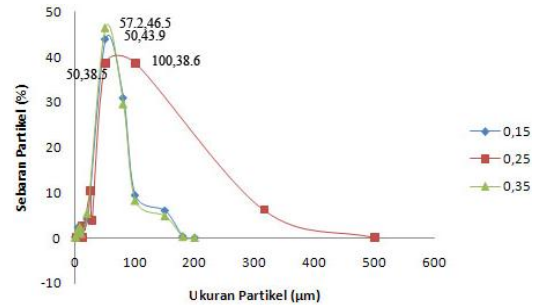
1087 dan 557 cm^{-1} . Hal ini merujuk pada referensi bahwa absorpsi gugus fosfat adalah berkisar 900 - 1200 cm^{-1} dan 550 - 650 cm^{-1} .⁸ Pita absorpsi pada panjang gelombang 1544 cm^{-1} (no 4 pada gambar 3) menunjukkan adanya gugus NH_2 . Pita absorpsi pada panjang gelombang 965 cm^{-1} (no 6 pada gambar 3) menunjukkan adanya gugus Si-OH. Kemudian pita absorpsi pada daerah panjang gelombang 795 cm^{-1} dan 457 cm^{-1} (berturut-turut no 7 dan 9 pada gambar 3) menyatakan ada gugus Si-O-Si. Hal ini berdasarkan pada referensi yang menunjukkan gugus NH_2 memiliki pita absorpsi pada panjang gelombang berkisar antara 1500 - 1650 cm^{-1} , gugus Si-OH mengalami absorpsi pada panjang gelombang 900 - 1050 cm^{-1} , gugus Si-O-Si pada panjang gelombang 750 - 800 cm^{-1} dan 400 - 500 cm^{-1} .⁷



Gambar 3. Pola FTIR sampel dengan variasi kitosan a.0,15; b.0,25 dan c.0,35 gr

4.3.3 Particle Size Analyze (PSA)

Karakterisasi PSA dilakukan untuk mengetahui ukuran partikel dan sebaran ukuran partikel pada komposit. Prinsip dari alat ini, mengukur ukuran partikel dari material yang tidak larut dalam air. Analisis PSA dilakukan terhadap sampel dengan variasi kitosan 0,15, 0,25 dan 0,35 gr (hasil karakterisasi PSA pada Gambar 4).



Gambar 4. Grafik sebaran ukuran partikel sampel membran komposit variasi kitosan 0,15; 0,25 dan 0,35 gr

Berdasarkan analisis PSA dari sampel komposit kitosan, silika dan kalsium fosfat diperoleh rentang ukuran partikel untuk kitosan 0,15 gr yaitu 0,5 - 180 μm , kitosan 0,25 gr dengan kisaran 10 - 500 μm dan kitosan 0,35 gr dengan kisaran 0,5 - 180 μm . Grafik pada gambar 4 terlihat bahwa sebaran ukuran partikel yang dominan pada kitosan 0,15 gr adalah 50 μm dengan persentase penyebaran dalam sampel sekitar 43,9%. Kitosan 0,25 gr ukuran partikel yang dominan adalah 100 μm dengan sebaran partikel sekitar 38,6 %, dan penyebaran ukuran partikel 50 μm hampir sama dengan penyebarannya 100 μm yaitu penyebarannya 38,5 %. Kitosan 0,35 gr ukuran partikel yang dominan yaitu 57,2 μm dengan persentase sebaran partikel 46,5%. Dengan membandingkan ukuran partikel dan persentase sebaran ukuran partikel pada sampel kitosan 0,15 : 0,25 : 0,35 gr diperoleh perbandingan ukuran partikel secara berturut-turut yaitu 50 : 100 : 57,2 μm dan perbandingan persentase sebaran partikel secara berturut - turut 43,9 : 38,6 : 46,5 %. Pada gambar terlihat untuk variasi kitosan 0,25 gr terjadi pelebaran

puncak yang cukup besar dibandingkan dengan variasi kitosan 0,15 dan 0,35 gr, yang menandakan variasi kitosan 0,25 memiliki ukuran partikel yang lebih besar dari yang lain. Dapat disimpulkan bahwa peningkatan jumlah kitosan dalam komposit tidak berpengaruh terhadap perubahan ukuran partikel. Kemudian ukuran partikel yang dominan untuk masing - masing sampel, dapat dikatakan cukup besar.

IV. Kesimpulan

pH yang optimum untuk membuat komposit adalah pH = 5. Komposit dengan variasi kitosan 0,15, 0,25, dan 0,35 gr dikarakterisasi dengan menggunakan foto optik, FTIR dan PSA. Analisis foto optik menunjukkan dengan bertambahnya kitosan tingkat keseragaman partikel komposit menurun. Karakterisasi FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi -OH dan -NH dari kitosan, fosfat, dan Si-OH dan Si-O-Si dari silika. Dan analisis PSA menunjukkan dengan peningkatan jumlah kitosan dalam komposit tidak berpengaruh terhadap perubahan ukuran partikel.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis laboratorium Kimia Material Universitas Andalas.

Referensi

- 1 Shirotsaki, Y., Tsuru, K., Hayakawa, S., Nakamura, Y., Gibson, I. R., and Osaka, A., **2010**, Effects of Si(IV) Released from Chitosan-Silicate Hybrids on Proliferation and Differentiation of MG63 Osteoblast Cells, *Bioceramics Development and Applications*, Vol. 1, 1.
- 2 Pillai, C. K. S., Paul, W., and Sharma, C. P., **2009**, Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility and Fiber Formation, *Elsevier*, 2.
- 3 Krajewska, B., and Olech, A., **1995**, Pore Structure of Gel Chitosan Membranes. I. Solute Diff. Measurements, *Elsevier*, 1.
- 4 Handayani, E., **2009**, Sintesa Membran Nanokomposit Berbasis Nanopartikel Biosilika dari Sekam Padi dan Kitosan sebagai matrik Biopolimer, *Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor*, 4.
- 5 Mourya, V. K., Inamdarand, N. N., and Tiwari, A., **2010**, Carboxymethyl Chitosan and its Applications, *ADVANCED MATERIALS Letters*, 2.
- 6 Nabilah, S. R., Arief, S., dan Zulhadjri, **2012**, Sintesis dan Karakterisasi Membran Komposit yang Berbahan Dasar Kitosan, Silika, dan CaCO₃, *J. Kimia Unand*, Vol. 1 No. 1, 4.
- 7 Lee, E., Shin, D., Kim, H., Koh, Y., and Jang, J., **2008**, Membrane of Hybrid Chitosan-Silica Xerogel for Guided Bone Regeneration, *Elsevier*, 3.
- 8 Soejoko, D. S., dan Wahyuni, S., **2002**, Spektroskopi Inframerah Senyawa Kalsium Fosfat Hasil Presifitasi, *MAKARA, SAINS*, VOL. 6, NO. 3, 3.

ISOLASI DAN KARAKTERISASI TRITERPENOID DARI FRAKSI N-HEKSAN PADA KULIT BATANG SRIKAYA (*ANNONA SQUAMOSA* L)

Ridhia, Sanusi Ibrahim, Mai Efdi

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: sanusi_ibrahim49@yahoo.com
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation and characterization of triterpenoid from n-hexane fraction in *Annona squamosa* L stem bark extract has been investigated. The result was obtained as a white crystal with melting point 176.8 - 178.2 °C which has shown single spot to several eluents in some comparisons. LB test has indicated was of the triterpenoid compound. UV spectra of the compound has shown max absorption at 206 nm which of non-conjugated double bond. From IR spectra analysis one can conclude that the appearance of bands at around 3440 cm⁻¹, 2931 cm⁻¹, 1686 cm⁻¹, 1372 cm⁻¹ and 1199 cm⁻¹ indicate the groups of -OH, aliphatic C-H, C=O, geminaldimetil and C-O.

Keywords: Triterpenoid, *Annona squamosa* L, geminal dimetil

I. Pendahuluan

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia setelah Brazil dan Zaire. Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi dimasa mendatang.

Keanekaragaman hayati adalah istilah untuk menerangkan keragaman ekosistem dan berbagai bentuk serta variabelitas tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Tumbuhan tersebut dapat menghasilkan senyawa metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer merupakan produk esensial yang terdapat pada semua makhluk hidup yang digunakan untuk kelangsungan hidup dan berkembangbiak, misalnya karbohidrat, protein, lemak, dan asam nukleat. Metabolit sekunder merupakan produk khas yang ditemukan pada tumbuhan tertentu saja. Keberadaan senyawa metabolit sekunder oleh beberapa ahli disebutkan sebagai pemikat (*attractant*),

penolak (*reppelant*), dan pelindung (*protectant*).¹

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan makanan dan obat tradisional adalah *Annona squamosa* L atau lebih dikenal dengan nama srikaya. Bagian - bagian dari *Annona squamosa* L telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Salah satunya adalah kulit batang yang berguna untuk bioinsektisida dan sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker.

Annona squamosa L adalah salah satu family Annonaceae, berasal dari Amerika tropis, yang sekarang banyak ditanam di Indonesia, tanaman berupa pohon dengan tinggi lebih kurang 2 - 3 m. Akarnya mengandung racun, buahnya manis dan enak dimakan, biji dan daunnya dihaluskan dapat di manfaatkan sebagai pembasmi serangga.

Tanaman dikenal banyak mengandung senyawa-senyawa kimia khususnya senyawa metabolit sekunder. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang

terkandung di dalam tanaman adalah senyawa Triterpenoid. Senyawa tersebut dapat dijumpai pada bagian akar, batang, daun, buah maupun biji tanaman.²

Triterpenoid merupakan suatu senyawa yang memiliki kerangka dasar yang terdiri dari enam unit satuan isoprene dan dalam biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualen. Triterpenoid merupakan golongan terbesar dari terpenoid dan tersebar luas dalam tumbuhan dan hewan. Di alam tritepen terdapat dalam bentuk bebas, bentuk ester atau bentuk glikosidanya.³

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Peralatan yang digunakan untuk pekerjaan isolasi adalah seperangkat alat distilasi, seperangkat alat rotary evaporator (Betracher Lamag[®]), lemari pengering atau oven (Fisher Scientific Isotemp[®] oven, model 630 F), lampu UV ($\lambda = 254$ nm dan 356 nm), spektrofotometer ultraviolet secoman S1000 PC, FTIR Perkin Elmer 1600 series, Fisher melting point apparatus, kolom flash kromatografi, plat KLT, erlenmeyer berbagai ukuran, gelas ukur berbagai ukuran, botol berbagai ukuran, chamber, vial, plat tetes, corong berbagai ukuran, kapiler, pinset, alumunium foil, kertas saring, pipet tetes, spatel, dan neraca.

Bahan-bahan yang dipergunakan adalah kulit batang Srikaya (*Annona Squamosa* L) yang telah dikering anginkan dan bahan kimia berupa pelarut organik seperti metanol teknis yang didistilasi, etil asetat teknis yang didistilasi, n-heksana teknis yang didistilasi, diklorometan p.a , anhidrida asetat, asam sulfat pekat, akuades, bubuk magnesium, silika gel, amoniak, HCl pekat, NaOH, FeCl₃, kloroform, Iodium.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Ekstraksi

Sebanyak 700 g sampel kulit batang srikaya yang telah halus diekstraksi dengan menggunakan metoda maserasi. Pelarut pertama yang digunakan untuk maserasi adalah n-heksan, pelarut dimasukkan kedalam botol hingga ketinggian permukaan pelarut ± 2 cm di atas permukaan serbuk , sekitar 500 mL. Penggantian pelarut dilakukan setiap 2 hari sekali. Penggantian pelarut dilakukan sebanyak lima kali. Filtrat hasil maserasi dikumpulkan dan kemudian dipisahkan dengan rotary evaporator, sehingga didapatkan ekstrak pekat n-heksan. Sedangkan ampasnya dilanjutkan untuk maserasi dengan etil asetat, dengan cara yang sama seperti sebelumnya didapatkan ekstrak pekat etil asetat, dan kemudian dilanjutkan untuk maserasi dengan metanol yang kemudian juga dihasilkan ekstrak pekat metanol. Dari ketiga ekstrak pekat yang dihasilkan dilakukan uji Triterpenoid.

2.2.2 Isolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi n-Heksan

Pemisahan komponen-komponen yang terdapat di dalam fraksi yang akan dilanjutkan terlebih dahulu dilakukan dengan KLT, dilakukan untuk menentukan pola noda yang terbentuk dan perbandingan eluen yang cocok. Penampakan noda diamati dibawah lampu UV dan uap Iodium. Selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom.

Kromatografi kolom dilakukan dengan membuat bubuk silika gel dengan n-heksana, kemudian bubuk silika ini dimasukkan kedalam kolom kromatografi yang bagian dasarnya telah dilapisi kapas.⁴ Kemudian n-heksan dibiarkan turun sambil dinding kolom diketok-ketok untuk mencegah terbentuknya rongga udara sehingga silika menjadi padat dan rata. Sampel yang akan diuji dipreadsorbsi terlebih dahulu dengan mencampurkan sampel dengan silika gel dengan perbandingan 1 : 1. Setelah sampel dan silika

gel menyatu membentuk bubuk, kemudian dimasukkan kedalam kolom yang telah disiapkan.

Selanjutnya dilakukan elusi dengan menggunakan sistem elusi bergradien atau SGP (Step Gradien Polarity) dimulai dari eluen n-heksan yang bersifat non polar, dilanjutkan dengan eluen yang lebih polar yaitu dengan menambahkan etil asetat. Fraksi-fraksi yang turun ditampung dengan vial. Noda diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm dan uap iodin. Vial dengan noda yang memiliki Rf yang sama digabung, sehingga nantinya didapatkan beberapa fraksi. Fraksi yang memberikan pola noda cukup baik (pola noda yang tunggal) dimurnikan dengan cara rekristalisasi. Sehingga diperoleh kristal yang bebas dari pengotor dan memberikan pola noda yang tunggal. Sehingga didapatkanlah senyawa yang murni. Kristal yang didapatkan selanjutnya dilakukan karakterisasi.

III. Hasil dan Pembahasan

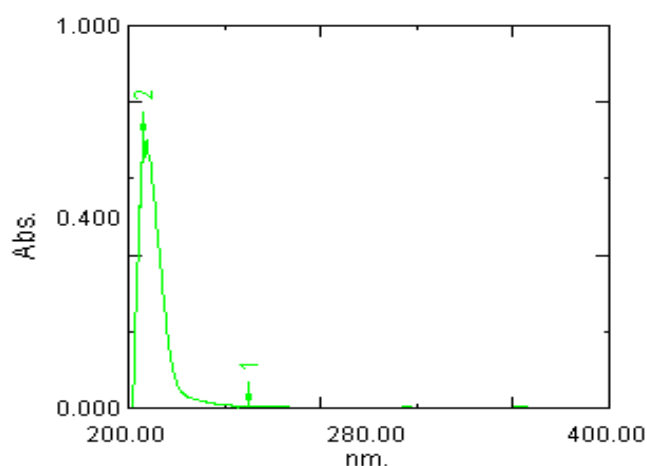
3.1. Uji Titik Leleh dan Uji Triterpenoid

Untuk menentukan apakah senyawa yang telah diisolasi telah murni atau belum, maka perlu dilakukan uji titik leleh terhadap senyawa tersebut. Dari hasil pengujian titik leleh didapatkan titik leleh dari senyawa ini adalah 176,8°C - 178,2°C. Rentang titik leleh senyawa yang didapatkan yaitu 1,4°C, ini mengindikasikan bahwa senyawa yang didapatkan telah murni karena senyawa dapat dikatakan murni apabila titik lelehnya memiliki rentang $\pm 2^\circ\text{C}$.

Setelah didapatkan senyawa murni, dilakukan pengujian Triterpenoid dengan Pereaksi Liebermann - Burchard, untuk mengetahui apakah senyawa yang didapatkan tersebut termasuk golongan Triterpenoid. Dari hasil uji triterpenoid dengan pereaksi Liebermann - Burchard terdapat cairan berwarna merah kecoklatan pada plat tetes.

3.2. Spektroskopi UV - Vis

senyawa yang mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (tidak berkonjugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 190 nm. Karena adanya gugus yang tak jenuh di dalam senyawa pada saat pengukuran, maka mengakibatkan panjang gelombangnya bergeser ke arah yang lebih besar. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam pelarut methanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang λ_{maks} 206 nm dapat dilihat pada **gambar 1**. Hal ini mengindikasikan adanya ikatan rangkap yang tidak berkonyugasi yang terdapat



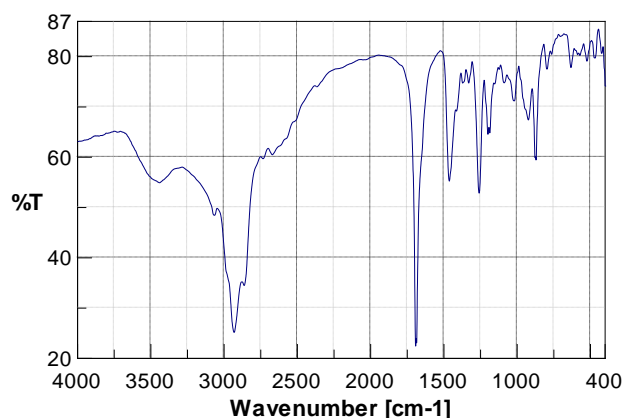
pada senyawa hasil isolasi.

Gambar 1. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi

3.3. FTIR

Spektrum inframerah senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada **gambar 2** yang memberikan interpretasi data yaitu beberapa serapan penting pada daerah bilangan gelombang 3440cm^{-1} yang menunjukkan adanya regangan -OH. Regangan C-O ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1199cm^{-1} . Regangan C=O ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1686cm^{-1} . Adanya -CH₂ dan -CH₃ ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 2931cm^{-1} , yang didukung

dengan adanya tekukan-CH pada bilangan gelombang 1463 cm^{-1} .⁵ Adanya gugus geminal dimetil ditunjukkan pada bilangan gelombang 1372 cm^{-1} .⁶



Gambar 2 . Spektrum Inframerah senyawa hasil isolasi

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa uji triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann - Burchard terhadap senyawa hasil isoalsi memberikan warna merah, memiliki rentang titik leleh 176,8 - 178,2 °C. Sementara hasil spektrum UV - Vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 206 nm, hal ini mengindikasikan bahwa adanya ikatan rangkap yang tidak berkonyugasi, dan data spektroskopi IR menunjukkan adanya gugus fungsi -OH, C=O, C-O, C-H alifatis dan adanya gugus geminal dimetil.

5. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas dan Staf Laboratorium Universitas Andalas.

Referensi

1. Marlina, E., 2007, Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobous ferrugineus* (Zoll & Moritz) Bent yang berfungsi sebagai Antioksidan. *Jurnal penelitian MIPA* .Vol I. No.1
2. Widiyati, E., 2005, Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktivitas biologi pada beberapa spesies tanaman obat tradisional masyarakat pedesaan Bengkulu,. *Jurnal Gradien*. Vol 2. No.1,hal 116 - 122
3. Lenny, 2006, Senyawa Terpenoida dan Steroida, FMIPA USU, Medan.
4. Ibrahim, S., 1998, *Teknik Laboratorium Kimia Organik*, Universtas Andalas, Padang
5. Stuart,B., 2004, *Infrared Spectroscopy : Fundamental and Application*, John Willey & Sons, Ltd.
6. Sastrohamidjojo, H., 1992, *Spektroskopi Infra Merah*, FMIPA, UGM., Edisi I. hal 56 -58

ISOLASI TRITERPENOID DAN UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG SIRSAK (*Annona muricata* Linn.)

Ayu Kurnia Dwi Putri Suhando, Adlis Santoni, Mai Efdi

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: adlis_1962@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation of triterpenoid and antioxidant activity test from extract of steam bark of sourcop (*Annona muricata*. Linn.) have done. The purified isolate compound is white crystal that has melting point distance 129.2 - 130.1 °C and gave single spot at some ratio eluents. Ultraviolet (UV) spectrum gave absorption at λ_{\max} 201.8 nm. Infrared (IR) spectrum data gave some important band of absorption at wavenumber 3431.71 cm^{-1} , 2928.38 cm^{-1} , 1644.02 cm^{-1} , 1461.78 cm^{-1} , 1375 cm^{-1} , 1111.76 cm^{-1} and 1050.05 cm^{-1} that are functional group of hydroxy (-OH) alcohol, CH_3 , C=O, C-H alifatis, specific absorption of triterpenoid compound are geminal dimetyl, C-O eter and vibration of C-O alcohol. The Liebermann-Burchard test of the compound gave red colour which shows the isolated compound belonging to triterpenoid group. The antioxidant activities test of each extract have inhibition percent from methanol 90.19%, ethyl acetate 56.16% and hexane 19.87%.

Keywords: *Annona muricata* Linn., triterpenoid, antioxidant

I. Pendahuluan

Indonesia termasuk dalam kawasan tropis yang memiliki kekayaan alam yang melimpah, terutama sumber daya alam hayatinya. Kekayaan ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan, antara lain untuk bahan pangan, pakaian, kosmetik, bahan baku industri dan sebagai obat. Banyak jenis tumbuhan yang sudah sejak lama dimanfaatkan sebagai obat-obatan seperti antitoksik, antibakteri, antimalaria, antioksidan, dll. Namun belum diketahui senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. [1]

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat diredam. Contohnya, antioksidan dapat juga menghambat oksigen reaktif atau nitrogen reaktif

(ROS/RON). Sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang di hubungkan dengan radikal bebas, seperti karsinogenik, kardiovaskular dan penuaan.[2-3]

Satu diantara ribuan famili tumbuhan tropis yang menarik adalah famili Annonaceae. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya telah dilaporkan memiliki aktifitas sitotoksik, antimalaria, antibakteri, menghambat pertumbuhan tumor hati, antioksidan, melawan beberapa turunan parasit, menghambat perkembangan sel HLC SMMC-7721.[4-10]

Salah satu spesies dari famili Annonaceae adalah *Annona muricata* Linn. yang biasa dikenal dengan tumbuhan sirsak oleh masyarakat Indonesia. Tumbuhan ini banyak digunakan sebagai obat-obatan tradisional oleh masyarakat, diantaranya sebagai anti jamur, efektif melawan

berbagai jenis parasit/cacing, menurunkan tekanan darah tinggi, depresi, stress dan menormalkan kembali sistem syaraf yang kurang baik.^[11]

Walaupun memiliki aktivitas yang besar bagi kesehatan, namun belum banyak masyarakat yang mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman ini. Belum banyak pelaporan mengenai isolasi senyawa maupun uji bioaktifitas dari tumbuhan ini. Dari penelusuran literatur, sedikit sekali yang telah melakukan isolasi dan uji antioksidan terhadap kulit batang dari tumbuhan sirsak ini.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang sirsak (*Annona muricata* Linn.). Kemudian, bahan kimia yang digunakan selama penelitian diantaranya heksan (C_6H_{12}), etil asetat ($CH_3CH_2OC(O)CH_3$), metanol (CH_3OH), (yang ketiganya merupakan pelarut teknis yang telah didistilasi). Heksan, etil asetat dan metanol digunakan sebagai pelarut saat maserasi, sedangkan eluen yang digunakan untuk kromatografi kolom adalah heksan dan etil asetat. Absorben yang digunakan pada kromatografi kolom adalah silika gel 60 (0,063-0,200 mm), pereaksi Meyer dipakai untuk identifikasi alkaloid, pereaksi Liebermann- Burchard untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, HCl pekat dan bubuk Mg untuk identifikasi flavonoid dan $FeCl_3$ untuk identifikasi fenolik. DPPH digunakan saat uji bioaktifitas antioksidan.

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator Heidolph* WB 2000, oven, kertas saring *Whatman* No.42, kolom kromatografi, peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium (gelas ukur, erlenmeyer, labu destilasi, dll), *chamber*, plat KLT, pembakar spiritus, lampu Ultraviolet (UV; $\lambda = 254$ dan 356 nm), *Fisher melting point apparatus*, spektrofotometer ultraviolet (UV; Secoman S1000 PC) dan

Fourier Transform Infra Red (FTIR Perkin Elmer 1600 series).

2.2. Prosedur penelitian

Ada beberapa tahap yang dilakukan dalam penelitian ini, diantara adalah :

1. Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh di daerah Pekonina, Kecamatan Pauh Duo, Kabupaten Solok Selatan yang diambil pada tahun 2012. Bagian yang akan diteliti adalah kulit batang yang telah dikering anginkan pada udara terbuka selama ± 2 bulan dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung sampai kering. Untuk persiapan sampel, sampel kering tersebut kemudian digiling halus sampai berbentuk serbuk lalu ditimbang. Dan didapatkan sampel bubuk sebanyak 616 gram yang kemudian diekstrak dengan metoda maserasi. Sampel ini juga dilakukan uji fitokimia.

2. Metode ekstraksi

Metoda ekstraksi senyawa metabolit sekunder yang digunakan adalah maserasi.^[12] Pelarut yang digunakan pada maserasi ini adalah heksan, etil asetat dan metanol.

Ekstrak heksan kemudian dikromatografi kolom dengan menggunakan sistem SGP (*Step Gradient Polarity*)^[12,13] dengan eluen yang digunakan dimulai dari heksana : etil asetat = 8 : 2 hingga heksan : etil asetat = 5 : 5. Hasil dari kromatografi kolom ini didapatkan sebanyak 63 vial.

Hasil ini kemudian dimonitori dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) hingga didapatkan fraksi lebih kecil. Fraksi yang paling sederhana kemudian dimurnikan dengan cara pencucian dan rekristalisasi.^[12,14]

3. Karakterisasi

Senyawa murni hasil isolasi kemudian diuji triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Selain itu juga dilakukan uji titik leleh dengan cara mengambil sedikit kristal murni dan

dimasukan ke dalam pipa kapiler kecil. Titik leleh diukur ketika kristal mulai meleleh hingga meleleh sempurna.

Senyawa murni hasil isolasi dikarakterisasi dengan diukur spektrumnya menggunakan spektroskopi UV dan IR.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil uji fitokimia

Hasil pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam kulit batang tanaman sirsak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Profil Fitokimia Kulit Batang Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Pengamatan	Hasil Uji
1	Alkaloid	Meyer	Kabut putih	√
2	Fenolik	FeCl ₃	Warna biru	√
3	Flavonoid	Sianidin (HCl + Mg)	Warna orange	√
4	Kumarin	NaOH 1%, fluoresensi UV	Berfluorisen si terang	√
5	Saponin	Air	Tidak ada busa	x
6	Steroid	Liebermann-Burchard	Warna hijau	√
7	triterpenoid	Liebermann-Burchard	Warna merah	√

Keterangan : √ = mengandung senyawa
x = tidak mengandung senyawa

Dari Table 1 di atas, dapat disimpulkan bahwa kulit batang sirsak yang akan diteliti mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid, alkaloid dan kumarin. Namun tidak mengandung saponin.

3.2 Hasil isolasi senyawa metabolit sekunder

Hasil maserasi dan pemekatan dari kulit batang sirsak didapatkan ekstrak heksan berwarna kuning sebanyak 2,996 g, ekstrak etil asetat berwarna coklat tua sebanyak 7,817 g dan ekstrak metanol berwarna coklat sebanyak 11,090 g.

Ekstrak heksan dikromatografi kolom menggunakan sistem *Step Gradient Polarity*

(SGP) dikarenakan pada hasil uji KLT sebelumnya didapatkan pemisahan noda yang kurang baik. Eluen yang digunakan selama kromatografi kolom adalah heksan dan etil asetat, sedangkan fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 (0,063 - 0,200 mm). Dari kromatografi kolom ini didapatkan sebanyak 63 vial. Kemudian senyawa yang terdapat dalam vial-vial ini dimonitori dengan menggunakan KLT, sehingga diperoleh fraksi-fraksi yang lebih sederhana sebanyak 14 fraksi (I - XIV).

Selanjutnya pengerjaan difokuskan pada fraksi V karena fraksi ini memperlihatkan adanya kristal dalam jumlah yang relatif banyak setelah pelarutnya diuapkan dibandingkan fraksi-fraksi yang lain. Selain itu juga dikarenakan pola nodanya yang sederhana. Kemudian, fraksi V ini dimurnikan dengan pencucian dan rekristalisasi.

Pada fraksi V ini ditambahkan etil asetat dan dilakukan pengadukan. Penambahan etil asetat ini menghasilkan larutan hijau dan kristal. Penambahan etil asetat dilakukan hingga tidak ada lagi yang bisa larut dalam etil asetat yang mengindikasikan bahwa pengotor yang larut pada etil asetat telah habis. Selanjutnya pencucian dilakukan dengan menggunakan pelarut heksan. Pencucian ini juga dilakukan hingga larutan hijau tidak dihasilkan lagi (artinya pengotor yang larut dalam heksan telah habis). Setelah itu, kristal dipindahkan ke dalam vial bersih dan didiamkan beberapa hari hingga pelarutnya menguap dan terbentuk kristal kembali. Kristal ini kemudian dilakukan uji kemurniannya.

Kristal diuji kemurniannya dengan menggunakan KLT pada berbagai perbandingan eluen. Hasil dari uji kemurnian ini berupa noda tunggal yang nilai *Retention factor* (RF-nya) dapat dilihat pada Tabel 2. Noda hasil elusi tidak tampak pada lampu *Ultraviolet* (UV) sehingga digunakan penampak noda H₂SO₄ 2N dan dipanaskan di atas *hotplate*. Hasil yang didapatkan menggunakan metode ini

adalah berupa noda yang berwarna kemerahan.

Tabel 2. Hasil uji kemurnian senyawa menggunakan KLT dengan berbagai perbandingan eluen

No.	Eluen	Rf
1	DCM 100%	0,375
2	Heksan : EtOAc (5 : 5)	0,325
3	Heksan : EtOAc (7 : 3)	0,5
4	Heksan : EtOAc (8 : 2)	0,39

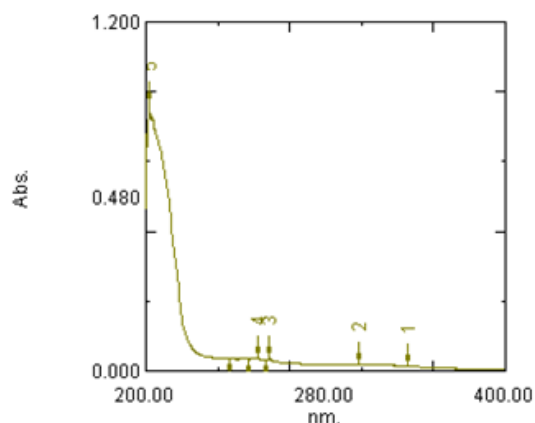
Dari hasil KLT ini terlihat bahwa senyawa hasil isolasi telah murni. Senyawa hasil isolasi berupa kristal putih berbentuk jarum dan memiliki berat 68,1 g.

3.3 Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Untuk memastikan senyawa hasil isolasi yang didapatkan telah murni maka dilanjutkan dengan pengujian titik leleh. Dari hasil pengujiannya didapatkan titik leleh dari kristal ini berada pada rentang 129,2 – 130,1 °C. berdasarkan rentang titik leleh yang cukup pendek dimana titik leleh senyawa murni berada pada rentang ± 2 °C, dapat diindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni. Kemudian, pengujian menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan warna merah kecoklatan yang menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk golongan triterpenoid.

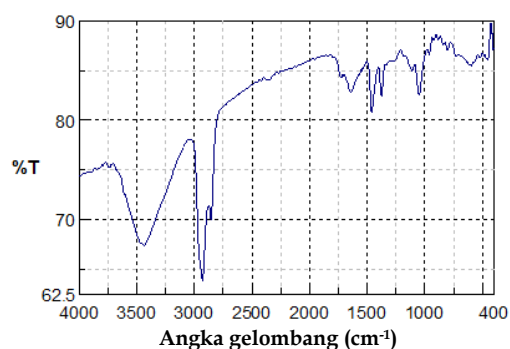
Kristal hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan spektrometer *Ultraviolet* (UV-1700 series). Spektrum UV yang dihasilkan memberikan panjang gelombang maksimal pada 201,8 nm. Spektrum UV dapat terlihat pada Gambar 1.

Serapan maksimum pada spektrum UV ini, yaitu 201,8 nm menandakan adanya eksitasi elektron dari π ke π^* . Eksitasi elektron ini menandakan adanya ikatan rangkap pada senyawa. Pada serapan ini juga terlihat bahwa pada senyawa hasil isolasi tidak ada ikatan rangkap berkonjugasi walaupun memiliki ikatan rangkap.



Gambar 1. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan FTIR *Perkin Elmer 1600 Series* yang memperlihatkan beberapa serapan penting pada bilangan gelombang 3431,71 cm^{-1} , 2928,38 cm^{-1} , 1644,02 cm^{-1} , 1461,78 cm^{-1} dan 1375 cm^{-1} , 1111,76 cm^{-1} , 1050,05 cm^{-1} yang dapat terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum IR senyawa hasil isolasi

Spektrum inframerah senyawa hasil isolasi memberikan indikasi beberapa pita serapan penting yaitu pita serapan ulur CH_3 berada pada daerah 2928.38 cm^{-1} yang didukung oleh adanya serapan pada 1461.78 cm^{-1} . Daerah 1644.02 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$). Geminal dimetil yang merupakan serapan khas senyawa golongan triterpenoid ditunjukkan pada daerah 1375 cm^{-1} . Serapan $\text{C}-\text{O}$ eter ditunjukkan pada angka gelombang 1300 –

1000 cm⁻¹ yaitu 1111.76 cm⁻¹. Kemudian pada daerah 3431.71 cm⁻¹ menunjukkan pita serapan -OH untuk gugus alkohol yang diperkuat oleh adanya vibrasi ulur C-O pada daerah 1050.05 cm⁻¹.

Berdasarkan informasi yang diperoleh dari spektrum IR, dapat diindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid.

3.4. Uji Antioksidan

Pengujian aktifitas antioksidan dari masing-masing ekstrak kulit batang sirsak menggunakan metoda DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

Pembuatan larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dengan cara ditimbang sebanyak 1,97 mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dan dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur sampai 100 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 µM. Penentuan absorban dari larutan DPPH dilakukan dengan dipipet sebanyak 3,8 mL larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 50 µM dan ditambahkan dengan 0,2 mL metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap, kemudian serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dan digunakan sebagai absorban kontrol.^[15]

Pemeriksaan aktivitas antioksidan, dilakukan dengan ditimbang ekstrak sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan sampai 50 mL dengan metanol dalam labu ukur 50 mL, maka didapatkan konsentrasi 1 mg/mL. Kemudian untuk penentuan aktivitas antioksidan dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 50 µM. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dan absorban digunakan sebagai absorban sampel. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal bebas melalui perhitungan persentase

inhibisi serapan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil.^[16]

Uji antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dimana pengujian antioksidan pada ekstrak metanol, heksan, dan EtOAc. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm.^[16]

Dari data Tabel 3 dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, EtOAc, dan heksan, berturut-turut mempunyai persen inhibisi sebesar 90,19 %, 56,16 % dan 19,87 %. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etil asetat kulit batang sirsak (*Annona muricata* Linn) mempunyai aktivitas yang besar terhadap penghambatan radikal bebas, sedangkan untuk ekstrak heksan tidak mempunyai aktivitas tersebut.

Tabel 3. Hasil uji aktifitas antioksidan ekstrak metanol, heksan, dan EtOAc dengan metode penangkapan radikal DPPH

No.	Larutan	Inhibisi (%)
1	Ekstrak Metanol	90,19
2	Ekstrak EtOAc	56,16
3	Ekstrak Heksan	19,87
4	Vitamin C	98,54

$$\text{Inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

IV. Kesimpulan

Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol merupakan ekstrak yang paling aktif sebagai antioksidan, senyawa hasil isolasi merupakan golongan triterpenoid.

V. Ucapan terima kasih

Di akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Pengukuran dan Kimia Organik Bahan Alam yang telah banyak memfasilitasi penulis selama penelitian.

Referensi

1. Kesuma, W., **2008**, *Tanaman Sirsak dan Khasiatnya Terhadap Kesehatan*, Jilid 1, Bumi Aksara, hal. 13-17
2. Kuncahyo, I. dan Sunardi, **2007**, Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*averrhoa bilimbi*, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH), *Seminar Nasional Teknologi 2007*, hal. 1-9
3. Yuslinda, E., Mukhtar, H., dan Khairunnisa. **2012**, Penentuan Aktifitas Antioksidan dari Beberapa Ekstrak Sayu-sayuran Segar dan Dikukus dengan Metoda DPPH, *Scienta*. Vol. 2. No. 1, hal 1-52
4. Chang, R.F., dan Wu, Y.C., **2001**, Novel Cytotoxic Annonaceous Acetogenins from *Annona muricata*, *J. Nat. Pro.* 64(7) : 925-931
5. Jurgen, T., **2009**, Antibacterial of Triterpenoid from *Annona muricata* seeds, *J. Chem.* Vol. 3, pp. 367-370
6. Jhons, T., **2011**, Antimalarial Alkaloid Isolated from *Annona squamosa*, *Inforsights Publishing UK*. Vol. 3, pp. 49-53
7. Rieser, M.J., Gu, Z.M., Fang, X.P., Zeng, L., Wood, K.V., dan Mclaughlin, J.L., **1996**, Five Novel Mono-Tetrahydrofuran Ring Acetogenins from The Seeds of *Annona muricata*, *J. Nat. Pro.* 59(2) : 100-8
8. Pandey, N., dan Dushyant, B., **2011**, Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Annona squamosa* Linn Bark. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol. 2(4). pp. 1692 - 1697.
9. Isabelle, A., *et al.*, **1998**, Leishmanicidal and Trypanocidal Activities of Acetogenins Isolated from *Annona glauca*. *Phytotropy Research*. Vol. 12. pp. 541 - 544.
10. Zhang, Y.H., **2004**, Anticancer effect of Two Diterpenoid Compounds Isolated from *Annona glabra* Linn. Vol. 25(7). pp.937-42
11. Oktia, D., **2007**, Isolasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* Linn.), *Skripsi Jurusan Kimia USU*
12. Ibrahim, S., **1998**, *Teknik Laboratorium Kmia Organik*, Pasca Sarjana Universitas Andalas. Hal. 19, 35-42
13. Gritter, R.J., J.M. Bobbit dan A.E. Schwarting., **1991**, *Pengantar Kromatografi*, ITB
14. Furniss, B. S., Antony J. H., Peter W. G. S. and Austin R. T., **1989**, *Practical Organic Chemistry ed 5th*. John Willey and Sons
15. Molineux, P., **2004**, The Use of Stable Free Radical Diphenyl Picrylhidzrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Technol.*, Vol. 26(2). pp. 211-219
16. Verma, A, *et.al*, **2011**, Anti Denaturation and Anti Oxidant Activity of *Annona cherimola* in Vitro, *Intr. J. Phar and Bio Sci.* Vol. 2

PENGGUNAAN REDUKTOR ORGANIK DAN ANORGANIK PADA PROSES SINTESIS NANOPARTIKEL Fe_3O_4 DENGAN METODE KOPRESIPITASI

Nela Roska Yuliani, Syukri Arief, dan Upita Septiani

^aLaboratorium Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: olalla.santonella@yahoo.co.uk
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Research on the use of organic and inorganic reducing agents in the synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles by coprecipitation method has been performed. Rock was crushed and destructed by using HCl 6M at 90 °C for 30 hours and found to be 69.70% dissolved. Some Fe^{3+} cations in the filtrate was partially reduced by glucose and wheat flour, as well as by inorganic sodium thiosulfate and potassium oxalate. Coprecipitation then performed using KOH 3M. Analysis by *X-Ray Diffraction* (XRD) in accordance with the standard JCPDS No. 19-0629 showed that the resulting product was magnetite (Fe_3O_4). Base on Scherer equation, the size of the magnetite crystals by using glucose was 16 nm and using flour reductant was 18 nm. Analysis by *Scanning Electron Microscopy* (SEM) showed a homogeneous morphology of magnetite particles with particle shape cubes and blocks and of micro size.

Keywords: magnetite, coprecipitation, redox reaction

I. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam terutama bahan-bahan galian industri atau bahan tambang. Bahan galian ini di Indonesia hampir menyebar diseluruh wilayah. Sumber-sumber yang menyebutkan tentang jenis, jumlah cadangan terhitung, kualitas, daerah penyebaran serta kegunaannya masih terbatas sekali, hal ini disebabkan karena banyaknya jenis bahan galian industri, termasuk yang belum diketahui kegunaannya disamping kualitas yang masih belum memenuhi persyaratan. Salah satu kekayaan alam tersebut adalah besi. Besi terdapat dalam beberapa bentuk deposit yang tersebar luas hampir di semua pulau besar di Indonesia. Di provinsi Sumatera Barat terdapat beberapa daerah yang memiliki cadangan batuan besi yang cukup besar, salah satunya adalah di Sungai Lasi, Kabupaten Solok. Selama ini besi ditambang dan dijual masih dalam bentuk mentah sehingga mempunyai nilai jual yang rendah. Nilai batu besi dapat kita tingkatkan dengan

menjadikannya sebagai bahan baku pembuatan nanopartikel Fe_3O_4 ⁶⁾.

Nanopartikel magnetit telah menjadi material menarik yang dikembangkan karena sifatnya yang terkenal dan sangat potensial dalam aplikasinya dalam berbagai bidang, sepertidalam bidang medis digunakan sebagai *drug delivery*, terapi *hyperthermia*, dan *Magnetic Resonance Imageing* (MRI). Dalam bidang industri digunakan sebagai katalis, sensor,penyimpan data dalam bentuk CD atau *hard disk*, dan pigmen warna. Untuk mensintesis partikel nanoseragam dilakukan beberapa metoda dengan mengatur ukurannya sehingga menjadi salahsatu kunci masalah dalam ruang lingkup sintesis nanopartikel. Banyak Metoda yang telah dilakukan peneliti untuk pembuatan Fe_3O_4 yang halus danhomogen diantaranya metoda kopresipitasi, *solvothormal*, *sol gel*, *solid state*, dan lain-lain¹⁾. Setiap metoda memiliki kelebihan dan kekurangan tersendiri, namun semuanya telah terbukti dapat digunakan untuk membuat nanopartikel magnetit. Dalam penelitian ini metoda yang akan digunakan

adalah metoda kopresipitasi melalui reduksi sebagian ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} menggunakan reduktor. Metoda ini dinilai lebih cocok karena sampel yang digunakan adalah bahan alam. Selain itu metoda ini lebih mudah untuk dilakukan karena bahan - bahan dan cara kerja yang digunakan lebih sederhana dibandingkan dengan metoda lainnya. Adapun dalam penelitian ini mempelajari reduktor yang digunakan. Dimana terdiri dari dua jenis reduktor, yaitu reduktor organik dan anorganik. Berhubung peneliti terdahulu lebih menitikberatkan penggunaan reduktor organik, maka pada penelitian ini akan dilaporkan perbedaan antara kedua jenis reduktor tersebut.

II. Metodologi Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat - alat yang digunakan adalah *Hot Plate Stirrer*, *magnetic bar*, kondensor, erlenmeyer, gelas piala, labu ukur, labu refluks, pipet tetes, kertas saring, pHmeter, spatula, batang pengaduk, aluminium foil, buret, corong buchner, *grinder* dan alat karakterisasi SEM (SEM JEOL JSM-6360LA) dan XRD (XRD Philips PW 1710).

Bahan - bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah batuan besi, HCl 37% (Merck) yang diencerkan menjadi 6M, KOH (Merck) berupa pellet yang diencerkan menjadi 3M, NH_4OH (Merck), aquadest, glukosa, tepung terigu (segitiga biru), natrium tiosulfat (Merck) yang diencerkan dengan aquadest, dan kalium oksalat (Merck).

2.2 Proses Destruksi Batuan Besi

Batuan besi dipecah dan dihaluskan sehingga didapat partikel dengan ukuran mikro (Data XRF tahun 2006). Kemudian sebanyak 22,5 gram sampel batuan besi dimasukkan ke dalam labu refluks, dan kemudian ditambahkan HCl 6M sebanyak 100 mL. Pemanasan dan pengadukan dilakukan dengan menggunakan *hot plate stirrer* pada suhu 90 °C, proses pemanasan dan pengadukan ini dilakukan selama 30 jam dengan kecepatan 900 rpm. Suspensi yang telah didinginkan terlebih dulu disaring, residunya dikeringkan dengan oven pada suhu 115 °C, dan ditimbang ⁸⁾.

2.3 Sintesis Fe_3O_4

a. Dengan Reduktor Glukosa

Filtrat hasil destruksi dipipet sebanyak 15 mL ke dalam gelas piala, kemudian distirrer dan dipanaskan pada suhu 60°C. Kemudian ditambahkan reduktor glukosa sebanyak 5 mL secara perlahan - lahan dengan menggunakan buret, terus stirrer 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dan suhu 90°C. Selanjutnya ditambahkan KOH 3M sebanyak 15 mL secara perlahan sambil tetap distirrer. Setelah itu biarkan mengendap, saring dan cuci endapan dengan Aquadest dan Eter, dan keringkan dengan Oven ⁹⁾.

b. Dengan Reduktor Natrium Tiosulfat

Filtrat hasil destruksi dipipet sebanyak 15 mL ke dalam gelas piala, kemudian distirrer dan dipanaskan pada suhu 60°C. Kemudian ditambahkan reduktor Natrium Tiosulfat sebanyak 5 mL secara perlahan - lahan dengan menggunakan buret, terus stirrer 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dan suhu 90°C. Selanjutnya ditambahkan KOH 3M sebanyak 15 mL secara perlahan sambil tetap distirrer. Setelah itu biarkan mengendap, saring dan cuci endapan dengan Aquadest dan Eter, dan keringkan dengan Oven.

c. Dengan Reduktor Tepung Terigu

Filtrat hasil destruksi dipipet sebanyak 15 mL ke dalam gelas piala, kemudian distirrer dan dipanaskan pada suhu 60°C. Kemudian ditambahkan reduktor tepung terigu sebanyak 5 gram yang kemudian dilarutkan dalam aquadest sehingga mencapai volume 15 mL, penambahannya dilakukan secara sekaligus ke dalam gelas piala berisi filtrat, terus stirrer 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dan suhu 90°C. Selanjutnya ditambahkan KOH 3M sebanyak 15 mL secara perlahan sambil tetap distirrer. Setelah itu biarkan mengendap, saring dan cuci endapan dengan Aquadest dan Eter, dan keringkan dengan Oven.

d. Dengan Reduktor Kalium Oksalat

Filtrat hasil destruksi dipipet sebanyak 15 mL ke dalam gelas piala, kemudian distirrer dan dipanaskan pada suhu 60°C. Kemudian ditambahkan reduktor Kalium Oksalat sebanyak 10 mL secara perlahan - lahan dengan menggunakan buret, terus stirrer 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dan suhu

90°C. Selanjutnya ditambahkan KOH 3M sebanyak 15 mL secara perlahan sambil tetap distirer. Endapan sukar terbentuk sehingga ditambah NH₄OH sebanyak 10 mL. Setelah itu biarkan mengendap, saring dan cuci endapan dengan Aquadest dan Eter, dan keringkan dengan Oven.

III. Hasil dan Pembahasan

Tujuan dari penghalusan sampel adalah untuk memperluas permukaan sehingga tumbukan dengan HCl semakin besar serta reaksi pelarutan oksida logam yang berada dalam batuan besi semakin cepat. Alasan penggunaan HCl adalah karena HCl merupakan asam kuat yang punya kemampuan melarutkan oksida besi dari bijihnya menjadi Fe³⁺.

Tujuan proses destruksi dengan HCl adalah untuk mendapatkan larutan FeCl₃ yang merupakan sumber ion Fe³⁺. Dari hasil destruksi didapatkan filtrat yang berwarna coklat kekuningan yang merupakan warna dari larutan FeCl₃. Massa residu setelah disaring dan dikeringkan adalah 6,818 gram atau 30,30 % dari massa total sampel. Residu saat masih basah berwarna hijau kecoklatan dan dikelilingi oleh padatan abu-abu sebagai silika yang tidak ikut larut.

Persentase sampel batu besi yang terlarut di dalam HCl adalah 69,70 % Persentase ini mendekati persentase kandungan Fe₂O₃ 71,12 % di dalam sampel batuan besi. Artinya jika diasumsikan nilai 69,70 % tersebut adalah nilai Fe₂O₃ yang terlarut, berarti hampir semua oksida yang terlarut adalah oksida besi.

3.1 Proses Sintesis Nanopartikel Fe₃O₄

Pada saat Glukosa yang berupa cairan bening ditambahkan ke dalam filtrat pada suhu 60°C, terjadi reaksi perubahan bentuk menjadi koloid hitam yang tidak homogen. Glukosa ditambahkan ke dalam larutan tetes demi tetes. Hal ini bertujuan untuk menghindari atau meminimalisir udara atau oksigen yang masuk ke dalam gelas piala agar Fe²⁺ yang terbentuk tidak teroksidasi¹⁰.

Campuran filtrat dengan Glukosa berwarna hitam kecoklatan, setelah ditambahkan KOH 3M secara perlahan menggunakan buret didapatkan koloid berwarna hitam. Tujuan campuran dicuci dengan aquadest dan eter

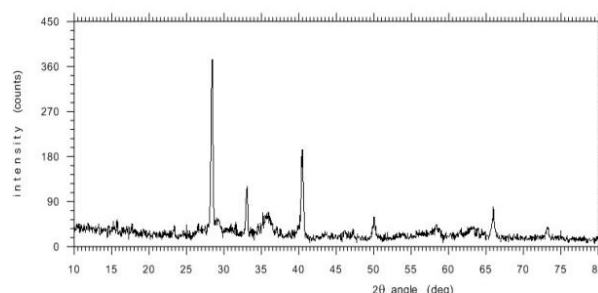
adalah agar endapan terpisah dari ion-ion pengganggu. Setelah dikeringkan endapan yang didapat berwarna hitam kecoklatan.

Sedangkan campuran filtrat dengan reduktor natrium tiosulfat berwarna hitam kecoklatan, dengan tepung terigu berwarna hitam pekat dan dengan kalium oksalat berwarna coklat. Terbentuk atau tidaknya magnetit dapat diuji dengan menggunakan magnet permanen. Karena endapan-endapan yang terbentuk dapat ditarik oleh magnet permanen maka dapat dianggap endapan tersebut adalah magnetit.

3.2 Analisis Dari Data XRD (X-Ray Diffraction)

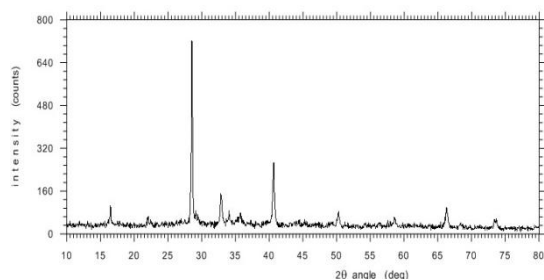
Pola difraksi sinar-X dari produk yang menggunakan reduktor glukosa dapat dilihat pada gambar 1. Puncak-puncak karakteristik dari 2θ memiliki kecocokan dengan standar magnetit (JCPDS No 19-0629) yang mengindikasikan bahwa produk yang dihasilkan adalah magnetit. Pola ini menunjukkan puncak yang jelas dan tajam sehingga dapat diasumsikan produk tersebut adalah kristal, bukan amorf.

Puncak XRD yang dihasilkan tidak jauh berbeda dari data standar namun sedikit melebar. Dengan menggunakan persamaan Scherrer didapatkan diameter rata-rata kristal magnetit adalah 16 nm. Puncak yang jelas dan tajam mengindikasikan bahwa magnetit yang terbentuk memiliki kristalinitas bagus.



Gambar 1. Pola difraksi sinar X Fe₃O₄ menggunakan reduktor Glukosa

Pola XRD yang ditunjukkan gambar 2 tidak jauh berbeda dengan dengan pola XRD pada gambar 1, yakni sama-sama menunjukkan puncak karakteristik magnetit namun dengan intensitas yang lebih tinggi.



Gambar 2. Pola difraksi sinar-X Fe₃O₄ yang menggunakan reduktor tepung terigu.

Walaupun produk ini sama - sama kristal magnetit, namun ada dua perbedaan mendasar yang dapat dilihat dari hasil XRD ini. Yakni, intensitas puncak yang dihasilkan oleh sampel yang menggunakan terigu sebagai reduktor lebih tinggi dibandingkan dengan sampel yang menggunakan glukosa dan diameter kristal yang menggunakan reduktor glukosa berdasarkan persamaan Scherer ternyata lebih kecil, yakni 16 nm. Berdasarkan penelitian terdahulu pada jurnal no. 4 dan 7 ukuran partikel yang didapat relatif sama yakni berkisar antara 10-20 nm. Dimana masing - masing ukuran partikel yang diperoleh adalah 11 nm dan 14 nm dengan menggunakan reduktor organik⁴⁾.

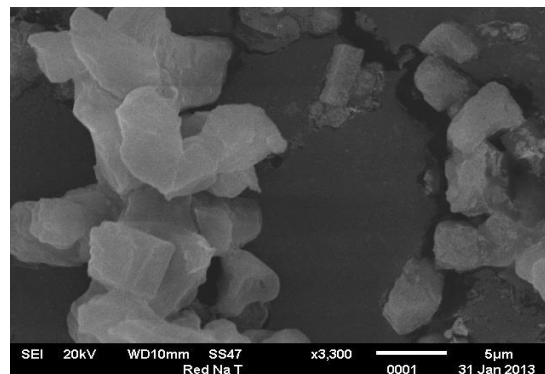
Puncak yang dihasilkan dengan menggunakan reduktor terigu lebih tinggi atau memiliki kristalinitas yang lebih baik dan ukuran kristal yang lebih besar karena terigu merupakan polisakarida dan memungkinkan terjadinya beberapa tempat oksidasi.

3.3 Analisis Dari Data SEM (Scanning Electron Microscopy)

Morfologi nanopartikel magnetit dengan reduktor Natrium Tiosulfat yang dihasilkan berdasarkan gambar SEM.

Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat bahwa ukuran partikel magnetit yang didapat cukup homogen. Dengan menggunakan reduktor natrium tiosulfat, dapat dilihat terjadinya penggabungan partikel sehingga berbentuk gumpalan. Partikel magnetik yang dihasilkan dengan reduktor natrium tiosulfat ini berbentuk kubus dan balok. Setelah diukur didapat ukuran partikel rata - rata adalah 4,3 mikrometer. Meskipun hasilnya cukup homogen, namun melihat ukuran partikel yang didapat, magnetit yang dihasilkan tidak

termasuk nanopartikel. Namun dalam penentuan secara fisik, partikel yang didapat bersifat magnetis dengan adanya tarikan ketika didekatkan pada magnet permanen¹¹⁾.



Gambar 3. Gambar SEM permukaan magnetit pada perbesaran 3.300 kali

Dari hasil analisis data SEM pada jurnal nano sains dan teknologi no. 7 tahun 2010, didapat perbedaan yang cukup signifikan, yakni hasil yang didapat disana cenderung tidak homogen namun diperkirakan ukuran yang didapat relatif kecil. Kemungkinan hal ini disebabkan karena reduktor yang dipergunakan oleh saudara peneliti adalah reduktor organik. Sedangkan pada penelitian ini, ukuran partikel yang didapat lebih besar dan lebih homogen dengan penggunaan senyawa anorganik sebagai reduktornya⁷⁾.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dengan menggunakan metode kopresipitasi, nanopartikel magnetit dapat dibuat dari sampel berupa batuan alam dengan menggunakan reduktor organik maupun anorganik, yaitu glukosa, tepung terigu, natrium tiosulfat dan kalium oksalat. Dari hasil XRD didapat informasi bahwa ukuran kristal dari magnetit yang dihasilkan dengan menggunakan reduktor glukosa adalah 16 nm dan dengan menggunakan reduktor tepung terigu adalah 18 nm. Dari kedua reduktor organik ini, reduktor tepung terigu memberikan nilai intensitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan reduktor glukosa. Sedangkan dari hasil analisis dengan SEM didapat gambar partikel yang cukup homogen dengan ukuran yang berbentuk

kubus dan balok, namun partikel yang didapat berukuran mikro sehingga dapat dikatakan sebagai magnetit saja.

Perbedaan yang cukup menarik didapat dalam penelitian ini yaitu, magnetit yang didapatkan dengan menggunakan reduktor organik berukuran nano sedangkan magnetit yang dihasilkan dengan menggunakan reduktor anorganik berukuran mikro. Jadi untuk mendapatkan magnetit dengan ukuran nano, dapat dikatakan penggunaan reduktor organik lebih efisien.

V. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas.

Referensi

1. Abdullah. **2008**. Sintesis Nanomaterial Anorganik. *Jurnal Nanosains dan Teknologi*, Vol.1 No 2.
2. Bob, F., **1997**, Fisika Terpadu, Erlangga, Jakarta.
3. Khopkar S. M., **1990**, Konsep Dasar Kimia Analitik, Terj. A. Saptokaharjo, UI Press.
4. Ladelta, V., **2008**, Pengaruh Reduktor Pada Sintesis Nanopartikel Magnetit (Fe_3O_4) dari Batuan Besi yang berasal dari Sungai Lasi Kabupaten Solok, *Jurnal Nanosains dan Teknologi*, Padang.
5. Mizukoshi, **2009**, Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles by reverse Precipitation, *Jurnal Nanosains dan Nanoteknologi*, Vol. 16.
6. Nola, L. D., **2006**, Laporan Praktek Kerja Lapangan di Dinas Pertambangan dan Energi Propinsi Sumatera Barat. Padang.
7. Oktaviani, D., **2010**, Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Magnetit (Fe_3O_4) dari Batuan Besi dengan Metoda Kopresipitasi, *Jurnal Penelitian Nanosains dan Teknologi*, Padang.
8. Ozkakya, T, **2008**, Syntesis of Fe_3O_4 nanoparticles at 100oC and its magnetic characterization. *Journal of Alloy Compounds*. In Press.
9. Pagnanelli F., **2004**. Preliminary screening of purification processes of liquor leach solutions from reductive leaching of low-grade manganese ores, *Jurnal of Hydrometallurgy*, 71:, 319-327.
10. Sari, **2008**, In Situ Syntesis of Composite of Calcium Phospate Carbonate Polyglycode, *Jurnal Nanosains dan Nanoteknologi*, Vol 1. No 2.
11. Svehla, G., **1985**. Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semi Makro, Edisi ke 5. PT Kalman Media Pusaka, Jakarta.
12. Taufik, **2008**, Sintesis Partikel Nano $Fe_3-xMnxO_4$ berbasis Pasir Besi dan Karakterisasi Struktur serta Kemagnetannya, *Jurnal Nanosains dan Nanoteknologi*, Vol. 1 No 2.
13. Wei, X and Roger, C., **2007**, Syntesis of Magnetite Nanoparticles with Ferric Ionrecovered From Acid Mine Drainage. *Journal of Colloids and Surfaces A. Physicochem. Eng. Aspects*, 294: 280-286.
14. Yulianto, **2002**. Studi Preliminier Mineral Magnetik, Makalah diseminarkan di Laboratorium Kemagnetan Bahan Jurusan Fisika UNNES.

STUDI OPTIMASI PENENTUAN SENGG SECARA VOLTAMMETRI STRIPPING ADSORPTIF (AdSV)

Deswati, Hamzar Suyani dan Nesya Chairini

Laboratorium Kimia Analisis Terapan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

Jurusan Kimia, FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

An Optimization in determination of zinc using adsorptive stripping voltammetry (AdSV) has been carried out for some parameters which are variations supporting electrolyte, types of ligand, calcon concentration, pH of solution, accumulation potential, and accumulation time. The optimum condition found in this work has determined for supporting electrolyte KCl 0,1 M, ligand calcon with concentration 0,7 mM: the pH solution is 7; accumulation potential -0,7 V; and accumulation time 50 second. The level of method accuracy was calculated from Relative Standard Deviation (RSD) with $n=8$. The RSD results is 0.86% for measurement of 10 $\mu\text{g/L}$ Zn(II) which shows that the method has high level accuracy. This method was applied for the determination of water sample from Bungus Padang where the concentration of Zn(II) was found to be 0,01 $\mu\text{g/L}$ - 0,4 $\mu\text{g/L}$ with its recovery 99,96%.

Keyword: zinc(II), Adsorptive Stripping Voltammetry, accumulation potential, supporting electrolyte

I. Pendahuluan

Seng merupakan salah satu unsur penting untuk metabolisme normal banyak organisme hidup (sebagai logam esensial tubuh) namun bila keberadaannya dalam jumlah yang berlebihan, maka berubah fungsi menjadi racun. Seng terdapat di lingkungan berupa limbah yang dapat menghasilkan toksisitas yang mengancam kehidupan makhluk hidup. Tidak hanya manusia tapi juga hewan dan tumbuhan.¹

Keberadaan logam-logam dalam badan perairan dapat berasal dari sumber alamiah dan dari aktifitas manusia. disamping itu partikel logam yang ada di udara, karena adanya hujan dapat menjadi sumber logam dalam perairan. Adapun logam yang berasal dari aktifitas manusia dapat berupa buangan industri ataupun buangan rumah tangga. Jumlah seng dalam badan perairan adalah sekitar 10^{-5} sampai 10^{-2} mg/L. Karena jumlahnya yang runtu diperlukan suatu metoda yang sangat sensitive untuk mendeteksi keberadaan logam tersebut. Dengan demikian, diperlukan teknik dan peralatan yang baik

Untuk dapat ditentukan kadar logam berat yang berada di perairan.²

Berbagai metoda analisis telah banyak dilakukan untuk penentuan logam dalam air diantaranya spektrofotometri serapan atom, tetapi metoda tersebut tidak dapat mengukur kadar ion-ion logam yang sangat kecil, walaupun sebelumnya telah dilakukan prekonsentrasi (pemekatan) dengan cara ekstraksi pelarut. Oleh karena itu diperlukan metoda alternatif yang dapat mengatasi masalah tersebut.³

Voltammetri stripping adsorptive dipilih sebagai alternative metode analisis karena merupakan salah satu dari metode voltammetri stripping yang banyak digunakan dalam analisis logam berat karena memiliki sensitivitas yang baik, penggunaannya mudah, preparasi sampel yang mudah, selektif, harga murah dan logam-logam dengan konsentrasi yang sangat kecil dapat dianalisis.⁴ Pada metode ini, terdiri dari beberapa langkah yaitu: pembentukan kompleks antara logam dengan ligan, adsorpsi kompleks pada permukaan elektroda, reduksi

kompleks, dan pengukuran arus dengan scan potensial. Jumlah logam yang terakumulasi berbanding lurus dengan waktu akumulasi yang diberikan^{5,6}. Parameter yang dianalisa pada penelitian ini adalah pH, konsentrasi pengompleks, waktu akumulasi dan potensial akumulasi.⁷

Teknik voltametri stripping terdiri atas beberapa tahap, yaitu : a). Deposition step (tahap prekonsentrasi) dimana, pada tahap ini ion logam dalam larutan tereduksi dan terkonsentrasi pada elektroda kerja dengan cara memberikan potensial terkontrol (Edep) yang jauh lebih negatif dibandingkan dengan E1/2 dari ion logam tersebut b). Quiet step (tahap tenang) dimana pada tahap ini, proses pengadukan larutan dihentikan untuk beberapa saat (sekitar 10-15 detik) dan membiarkan sistem mencapai kesetimbangan. c). Stripping (tahap pelepasan) dimana pada tahap ini, terjadi pelepasan elektron kembali. Artinya, analit yang sudah menempel atau teradsorpsi dilepaskan kembali dari elektroda kerja dengan memberikan potensial sangat cepat sekali. Pada metode ini, terdiri dari beberapa langkah yaitu: pembentukan kompleks antara logam dengan ligan, adsorpsi kompleks pada permukaan elektroda, reduksi kompleks dan pengukuran arus dengan scan potensial secara anoda atau katoda. Jumlah logam yang terakumulasi berbanding lurus dengan waktu akumulasi yang diberikan.⁸

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh kondisi optimum dalam penentuan Zn(II) secara voltametri stripping adsorptif (AdSV). Untuk mendapatkan kondisi optimum tersebut dilakukan beberapa parameter yaitu: pengaruh jenis elektrolit, variasi pengompleks, konsentrasi kalkon, pH larutan, potensial akumulasi dan waktu akumulasi. Dari kondisi optimum yang telah didapatkan tersebut, diaplikasikan untuk penentuan Zn(II) di dalam air Laut Bungus Padang secara voltametri stripping adsorptif (AdSV).

II. Metodologi penelitian

2.1 Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan antara lain zink nitrat ($Zn(NO_3)_2$), gas nitrogen (N_2), elektrolit pendukung ammonium klorida (NH_4Cl) dan kalium klorida (KCl), pengompleks kalkon ($C_{20}H_{13}N_2NaO_5S$), oksin (C_9H_7NO), dimetilglioksi m ($CH_3C(NO_2)C(NO_2)CH_3$) dan Amonium Pirolidin Ditiokarbamat ($C_5H_9NS_2 \cdot NH_3$), buffer asetat, buffer amoniak, metanol (CH_3OH), asam nitrat (HNO_3) 65 %, akuabides dan sampel air laut.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Metrohm 797 Computrace dengan elektroda kerja HMDE, elektroda pembanding berupa Ag/ AgCl/ KCl 3 M, dan elektroda Pt sebagai elektroda pendukung; pH meter Griffin model 80, Griffin & George Loughborough, Inggris; dan neraca analitis Mettler AE 200, Toledo OH-USA; serta peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

2.2 Prosedur penelitian

Persiapan Sampel

Sampel air laut yang diambil pada beberapa titik di daerah perairan Bungus Padang, diawetkan dengan HNO_3 65% dengan perbandingan 1 : 1000.

Pembuatan Reagen

Pembuatan Larutan Elektrolit pendukung NH_4Cl 0,1 M

Ditimbang NH_4Cl sebanyak 0,5350 g, dan dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Elektrolit pendukung KCl 0,1 M

Ditimbang KCl sebanyak 0,5350 g, dan dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Zn(II) 10 $\mu g/L$

Larutan standar Zn(II) dengan konsentrasi 10 $\mu g/L$ dibuat dengan mengencerkan larutan induk Zn(II) 1000 ppm secara bertingkat. Larutan Zn 1000 ppm dibuat dengan menimbang $Zn(NO_3)_2$ sebanyak 0,2908 g, dan dilarutkan dengan akuabides dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Induk Kalkon 1 mM

Ditimbang kalkon sebanyak 0,0416 g dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Induk Oksin 1 mM

Ditimbang oksin sebanyak 0,0029 g dan dilarutkan dengan aquabidest dalam labu ukur 20 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Induk APDC 1 mM

Ditimbang APDC sebanyak 0,0164 g dan dilarutkan dengan HNO₃ 0,1 M dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Induk DMG 1 mM

Ditimbang DMG sebanyak 0,0023 g dan dilarutkan dengan aquabidest dalam labu ukur 20 mL sampai tanda batas.

Pembuatan buffer asetat

- A. larutan asam Asetat 0,2 M (dibuat dari 11,55 mL asam asetat 17,5 M dilarutkan dalam labu 1000 mL)
 - B. larutan amonium asetat 0,2 M (1,5416 g amonium asetat dilarutkan dalam labu 100 mL)
- x mL A + y mL B, dilarutkan sampai volume total 100 mL⁹

Tabel 1. Perbandingan volume asam asetat dan amonium asetat

X	Y	pH
49,8	0,2	2
48,0	2,0	3
41,0	9,0	4
14,8	35,2	5
2,0	48	6

Pembuatan Buffer Amoniak

- A : larutan amoniak 0,2 M (dibuat dari 3,08 mL amoniak 6,5 M dilarutkan dalam labu 100 mL)
 - B :larutan amonium asetat 0,2 M (1,5416 g amonium asetat dilarutkan dalam 100 mL akuabides)
- x mL A + y mL B, dilarutkan sampai volume total 100 mL⁹

Tabel 2. Perbandingan volume amoniak dan amonium asetat

X	Y	pH
0,4	49,6	7
2,0	48	8
17,8	32,2	9

Penentuan Kondisi Optimum

Dimasukkan 10 mL larutan standar Zn(II) 10 µg/L ke dalam vessel voltammeter, ditambahkan 0,5 mL elektrolit pendukung kemudian ditambahkan 0,3 mL pengompleks. Dilakukan pengukuran untuk mendapatkan nilai arus puncak (Ip). Kondisi optimum pengukuran dipelajari dari beberapa parameter antara lain variasi elektrolit pendukung (NH₄Cl 0,1 M dan KCl 0,1 M), variasi pengompleks (kalkon, oksin, dimetilglioksim, Amonium Piroolidin Ditiokarbamat, konsentrasi pengompleks (divariasikan dari 0,1 mM - 0,9 mM), pH larutan (divariasikan dari pH 2 sampai 9), potensial akumulasi (divariasikan dari - 0,01 V sampai -1,0 V), waktu akumulasi (10 sampai 110 detik).

Pengukuran Sampel

Dimasukkan 10 mL larutan sampel ke dalam vessel voltammeter, ditambahkan 0,5 mL larutan elektrolit dan ditambahkan 0,3 mL kalkon sesuai kondisi dan konsentrasi optimum yang telah didapatkan. Diatur potensial akumulasi, waktu akumulasi, pH, elektrolit pendukung dan konsentrasi pengompleks sesuai dengan kondisi optimum yang didapatkan. Dilakukan pengukuran untuk mendapatkan nilai arus puncak (Ip). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan metoda standar adisi untuk mendapatkan konsentrasi Zn(II) dalam sampel.

Penentuan Standar Deviasi Relatif

Dimasukkan 10 mL larutan standar Zn(II) µg/L ke dalam vessel voltameter. ditambahkan 0,5 mL larutan elektrolit dan 0,3 mL kalkon sesuai dengan kondisi dan konsentrasi optimum yang telah diperoleh, pH larutan, potensial akumulasi dan waktu akumulasi diatur sesuai dengan kondisi optimum yang telah didapatkan dengan pengulangan sebanyak 8 kali. Kemudian ditentukan nilai standar deviasi relatif dengan menggunakan rumus.¹⁰

$$\text{SDR} = \frac{S}{x} \times 100 \%$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan :

S = Standar deviasi/ simpangan baku

\bar{x} = nilai rata-rata

Penentuan Perolehan kembali

Penentuan perolehan kembali dilakukan dengan menggunakan sampel yang telah diketahui konsentrasinya kemudian dilakukan adisi standar dengan konsentrasi tertentu. Persen perolehan kembali diperoleh dari perbandingan konsentrasi sampel setelah adisi dengan sejumlah konsentrasi standar dan sampel.

% perolehan kembali = $B / (A+C) \times 100\%$

Keterangan :

B = Konsentrasi sampel setelah adisi

A = Konsentrasi sampel

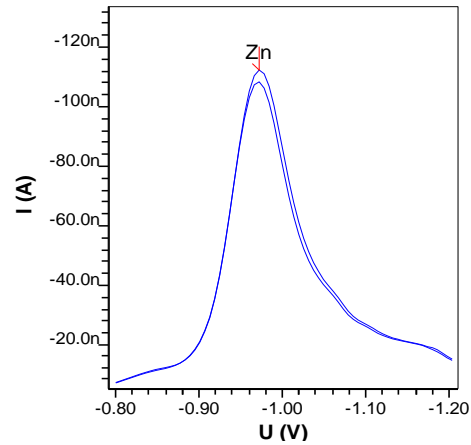
C = Konsentrasi standar ditambahkan

III. Hasil dan Pembahasan

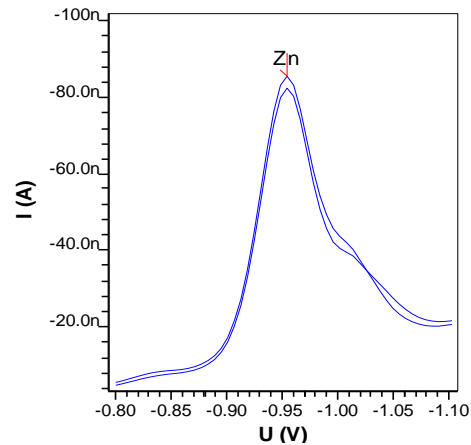
3.1 Variasi Elektrolit Pendukung

Pada penelitian ini dipelajari pengaruh variasi larutan elektrolit pendukung terhadap kondisi optimum pengukuran. Larutan elektrolit yang digunakan adalah NH_4Cl 0,1 M dan KCl 0,1 M. Hasil pengukuran kedua elektrolit pendukung pada penentuan Zn(II) dengan AdSV dapat dilihat pada Gambar 1.

Penambahan elektrolit pendukung berfungsi sebagai pengantar arus listrik dalam larutan sehingga analit tidak terpengaruh oleh perbedaan perubahan potensial yang diberikan dengan cepat. Selain itu juga untuk menekan arus migrasi, mengontrol potensial agar tahanan larutan dikurangi serta menjaga kekuatan ion total konsta.⁸ Padagambar 1 terlihat bahwa, penambahan elektrolit pendukung KCl 0,1 M dan NH_4Cl 0,1 M terhadap arus puncak yang dihasilkan untuk ion logam Zn(II), terdapat perbedaan yang signifikan.



(a)



(b)

Gambar 1. Voltammogram variasi larutan elektrolit pendukung, a. KCl 0,1 M; b. NH_4Cl 0,1 M. Kondisi pengukuran: larutan standar Zn(II) 10 $\mu\text{g/L}$; potensial akumulasi -0,7 V; waktu akumulasi 60 detik; dan scan rate - 0,8 V hingga -1.2 V

Arus puncak yang dihasilkan tinggi untuk ion logam Zn di atas adalah dengan menggunakan KCl 0,1 M. Hal ini disebabkan karena, ion K^+ lebih kecil dari ion NH_4^+ , sehingga kecepatannya mengatasi gerakan ion dalam larutan (elektro migrasi) jauh lebih lebih besar dari ion NH_4^+ . Akibatnya arus puncak yang dihasilkan dengan menggunakan KCl sebagai elektrolit pendukung jauh lebih besar dari menggunakan NH_4Cl . Untuk penelitian

selanjutnya digunakan KCl 0,1 M sebagai kondisi optimum pengukuran. Nilai arus puncak pengukuran Zn(II) dengan variasi elektrolit pendukung diperlihatkan pada tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Hubungan variasi elektrolit pendukung terhadap arus puncak (I_p)

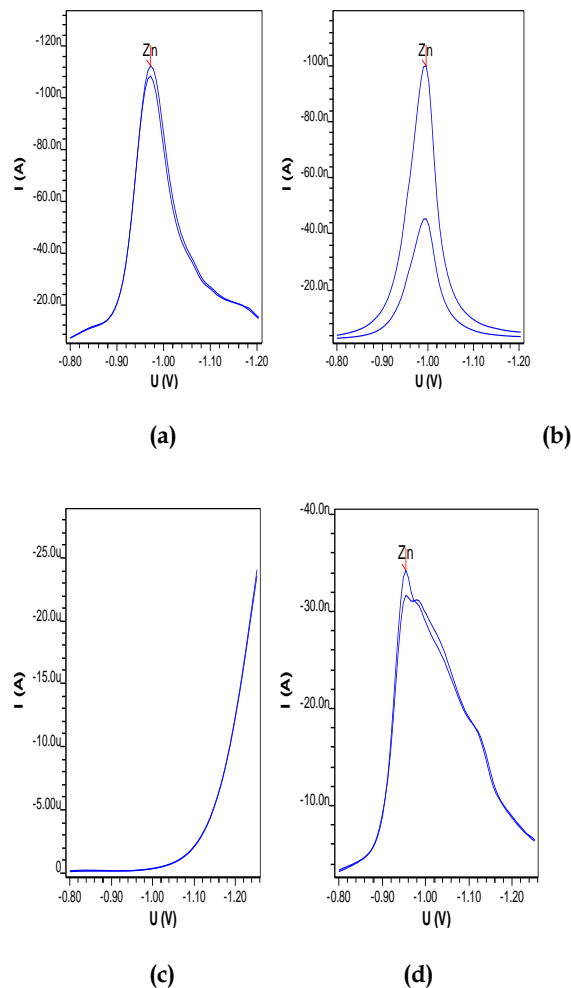
Elektrolit Pendukung	Arus Puncak (I_p)
KCl 0,1 M	99,36
	95,81
NH ₄ Cl 0,1 M	68,83
	71,93

3.2 Variasi Pengompleks

Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap 4 macam ligan, yaitu :kalkon, oksin, DMG dan APDC yang mempunyai konsentrasi yang sama, 1 mM. Pengukuran dilakukan pada waktu akumulasi 60 detik. Hasil volmatogram dan arus puncak dari masing-masing pengukuran dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 dapat terlihat bahwa logam Zn dapat di deteksi dengan penggunaan kalkon sebagai pengompleks, dan memberikan arus puncak sebesar 99,36 nA. Begitu juga APDC dan DMG dapat membentuk senyawa kompleks dengan Zn(II) dan terdesposisi di elektroda kerja, sehingga arus terbaca. Namun arus puncak yang diberikan lebih kecil daripada kalkon, yaitu 95,69 nA untuk APDC dan 29,83 nA untuk DMG.

Sedangkan oksin tidak memberikan puncak untuk penentuan Zn. Hal ini disebabkan oksin tidak membentuk kompleks dengan Zn dalam penentuan secara AdSV. Kalkon dipilih sebagai pengompleks yang digunakan dalam optimasi penentuan Zn(II) secara AdSV selanjutnya

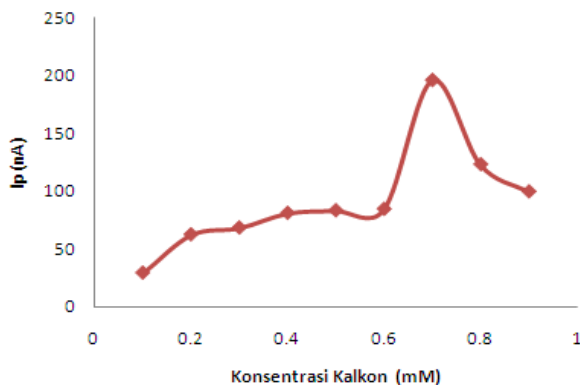


Gambar 2. Voltammogram penentuan Zn(II) dan arus puncak yang dihasilkan dengan ligan (a) kalkon: 99,36 nA, (b) APDC: 95,69 nA, (c) oksin: 0 nA, (d) DMG: 29,83 nA, pada potensial -0,7 V, waktu akumulasi 60 detik dan scan rate -0,8 V hingga -1.2 V.

3.3 Variasi Konsentrasi Kalkon

Selanjutnya dipelajari pengaruh konsentrasi kalkon terhadap kondisi optimum pengukuran. Kalkon sebagai pengompleks, akan membentuk kompleks dengan logam dan berperan sebagai basa lewis yang menyumbangkan pasangan elektron sunyi pada ion logam. Kestabilan kompleks akan menentukan jumlah analit yang terakumulasi pada permukaan elektroda kerja. Pembentukan kompleks yang stabil dengan ion logam akan menghasilkan arus puncak yang

tinggi. Penentuan konsentrasi optimum kalkan dilakukan pada variasi konsentrasi dari rentang 0,1 mM sampai 0,9 mM.. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 3.



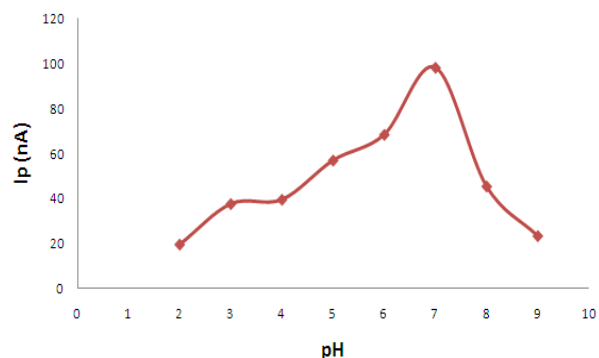
Gambar 3. Kurva hubungan arus puncak (I_p) Vs konsentrasi kalkan (mM). Kondisi pengukuran: Zn(II) 10 μ g/L, KCl 0,1 M, waktu akumulasi 60 s, potensial akumulasi -0,7 V dan *scan rate* dari -0,8 V sampai -1,2 V.

Konsentrasi pengompleks 0,7 mM memberikan arus puncak optimum. Pada konsentrasi pengompleks lebih kecil belum terjadi kompleks sempurna antara logam dan pengompleks sehingga arus yang didapat masih kecil. Pada konsentrasi optimum, logam dan pengompleks telah terkompleks sempurna sehingga memberikan arus optimum. Pada konsentrasi lebih besar dimungkinkan terjadi kompetisi antar pengompleks sebagai ligan dalam berikatan dengan ion logam sehingga arus menurun. Untuk penelitian selanjutnya digunakan kalkan 0,7 mM sebagai kondisi optimum pengukuran.

3.4 Variasi pH

Penentuan kondisi optimum berikutnya adalah pengaruh pH larutan. Dalam pengukuran menggunakan metoda AdSV ini, pH merupakan parameter yang sangat penting karena berkaitan dengan pembentukan senyawa kompleks antara kalkan dengan logam Zn(II) di dalam larutan. pH berperan dalam meningkatkan kestabilan kompleks yang terbentuk. Optimasi penentuan

pH dilakukan pada rentang pH 2 sampai pH 9. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.

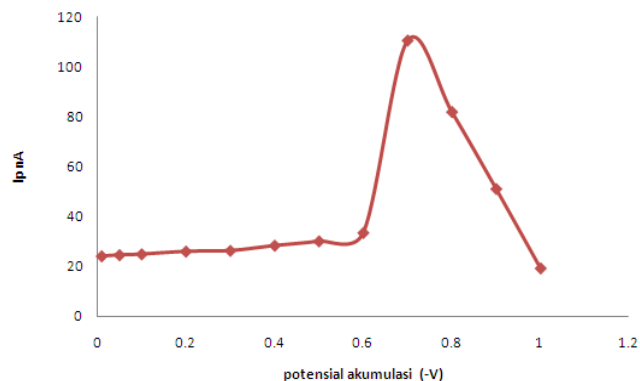


Gambar 4. Kurva arus puncak (I_p) Vs pH. Kondisi pengukuran: larutan standar Zn(II) 10 ppb; potensial akumulasi -0,7 V; waktu akumulasi 60 detik; KCl 0,1 M, kalkan 0,7 mM, *scan rate* dari -0,8 V sampai -1,2 V.

Dari Gambar 4 terlihat pengaruh pH terhadap arus puncak (I_p) pada analisa Zn(II) didapatkan kondisi optimum pada pH 7. Pada pH 7 ini terbentuk kompleks yang stabil antara ion Zn^{2+} dengan kalkan dalam jumlah yang banyak sehingga dapat meningkatkan arus puncak. Pada pH yang lebih kecil dari 7 arus puncak lebih kecil karena masih terdapat kelebihan proton yang dapat berkompetisi dengan ion Zn^{2+} . Sebaliknya, pada pH yang lebih besar dari pH 7 terjadi penurunan nilai arus puncak akibat adanya ion OH^- yang berlebih sehingga menyebabkan terjadinya hidrolisis pada ion logam dan arus yang terukur akan menurun. Untuk itu pH 7 dipilih sebagai kondisi optimum dalam analisa selanjutnya.

3.5 Variasi Potensial Akumulasi

Pada penelitian selanjutnya dilakukan penentuan hubungan antara arus puncak dengan potensial akumulasi yang diuji pada rentang -0,01 sampai dengan -1,0 V. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 5.

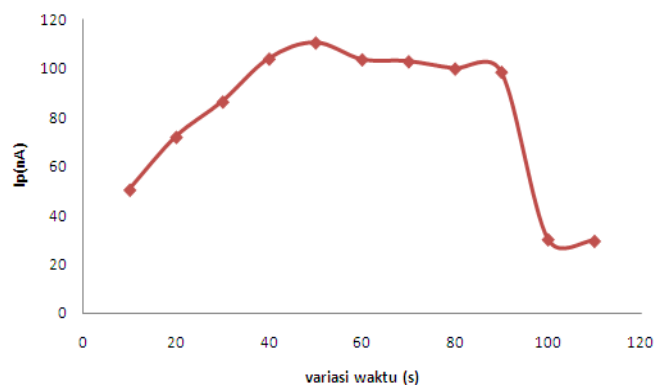


Gambar 5. Kurva arus puncak (I_p) Vs potensial akumulasi (-V). Kondisi pengukuran: larutan standar Zn(II) 10 ppb, waktu akumulasi 60 detik, pH 7, KCl 0,1 M, kalkon 0,7 mM, potensial akumulasi -0,7 V dan potensial Scan dari -0,8 V sampai -1,2 V.

Potensial akumulasi adalah potensial pada saat analit terdesposisi pada elektroda kerja. Pada kurva diatas dapat dilihat bahwa pada setiap variasi potensial akumulasi yang diuji, memberikan nilai arus puncak yang berbeda. Pada potensial akumulasi -0,01 V sampai -0,7 V kurva naik, hal ini menyatakan terjadi proses deposisi kompleks analit pada permukaan elektroda kerja yang belum mencapai maksimum. Pada rentang potensial -0,7 sampai -1,0 V kurva turun. Hal ini disebabkan karena terjadi proses reduksi kompleks analit selama proses deposisi berlangsung, sehingga arus puncak yang didapatkan pada saat pengukuran menjadi menurun. Jadi terjadi proses deposisi kompleks analit pada permukaan elektroda kerja yang mencapai maksimum di -0,7 V. Potensial akumulasi -0,7 V digunakan pada penentuan selanjutnya.

3.6 Variasi Waktu Akumulasi

Pada penelitian selanjutnya dilakukan penentuan hubungan arus puncak (I_p) dengan waktu akumulasi (s) yang diuji dengan memvariasikan waktu dari 10 s sampai 110 s. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kurva arus puncak (I_p) Vs waktu akumulasi (s). Kondisi pengukuran: larutan standar Zn(II) 10 ppb, pH 7, KCl 0,1 M, kalkon 0,7 mM, potensial akumulasi -0,7 V dan potensial Scan dari -0,8 V sampai -1,2 V.

Waktu akumulasi adalah waktu pada saat analit terdesposisi pada elektroda kerja. Makin lama waktu akumulasi, analit terdesposisi lebih banyak di elektroda. Secara teori, makin lama waktu akumulasi, maka makin banyak analit yang terdesposisi di elektroda. Pada waktu 10 dan 50 detik, arus puncak semakin naik dan pada waktu 60 detik sampai 110 detik arus puncak semakin menurun. Hal ini dimungkinkan karena makin lama waktu akumulasi, maka makin banyak analit terdesposisi ke elektroda kerja dan membuat elektroda jenuh. Sehingga pada saat stripping, tidak semua analit yang dilepas, sehingga arus yang dihasilkan juga lebih kecil. Waktu akumulasi 50 detik digunakan pada penentuan selanjutnya.

3.7 Standar Deviasi Relatif (SDR)

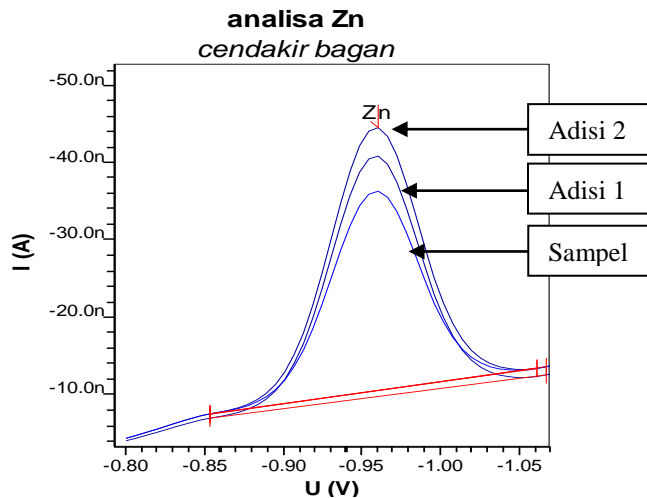
Standar deviasi relatif (SDR) digunakan untuk melihat ketelitian suatu metoda pada kondisi operasi yang sama dalam interval waktu yang tidak lama. Penentuan standar deviasi relatif dilakukan pada konsentrasi larutan Zn(II) 10 $\mu\text{g/L}$ dengan 8 kali pengulangan ($n = 8$). Kondisi pengukuran diatur sesuai dengan kondisi optimum yang telah didapatkan yaitu; larutan elektrolit pendukung KCl 0,1 M; pengompleks kalkon 1 mM; konsentrasi pengompleks kalkon 0,7 mM; pH larutan 7; potensial akumulasi -0,7 V dan waktu akumulasi 50 s. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Larutan Standar Zn(II) 10 µg/L

Pengulangan	Arus Puncak Pb (nA)
1	73,34
2	73,37
3	72,81
4	71,41
5	73,20
6	73,09
7	72,96
8	72,79
Rata-rata	72,87
Standar Deviasi	0,63
SDR	0,86%

Dari Tabel 4 di atas didapatkan arus puncak rata-rata 72,87 nA, dengan standar deviasi sebesar 0,63. Sedangkan standar deviasi relatif metoda voltametri stripping adsorptif untuk larutan standar Zn(II) 10µg/L didapatkan sebesar 0,86 %. Semakin kecil nilai SDR, maka semakin tinggi ketelitian dari metoda tersebut.

3.8 Aplikasi Pada Sampel

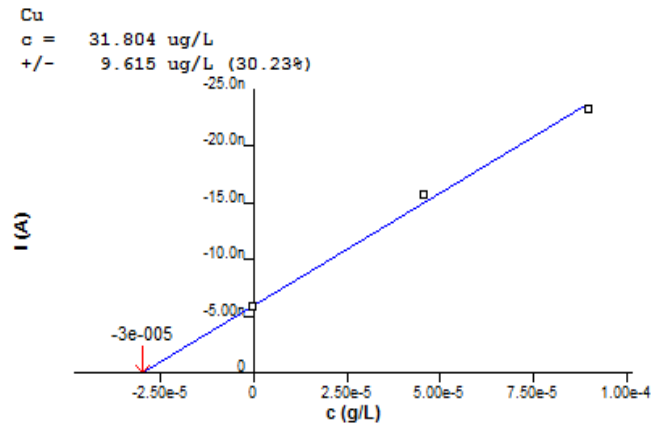


Gambar 12. Voltammogram sampel air laut cendakir bagan ,bungus Padang, dengan metoda standar adisi pada potensial -0,7 V, waktu akumulasi 50 detik, pH larutan 7, konsentrasi kalkon 0,7 mM dan potensial scan - 0.8 V sampai -1,05 V.

Aplikasi metoda ini dalam penentuan Zn(II) dilakukan pada sampel air laut Bungus Padang. Pengukuran sampel dilakukan dengan metoda

standar adisi menggunakan kondisi optimum yang telah didapatkan yaitu pada potensial akumulasi -0,7 V, waktu akumulasi 50 detik, pH 7 dan konsentrasi kalkon 0,7 mM. Hasil pengukuran sampel untuk penentuan Zn(II) dapat dilihat pada Gambar 7.

Konsentrasi sampel air laut pada daerah cendakir bagan diperoleh berdasarkan kurva kalibrasi yang diperlihatkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Kurva kalibrasi pengukuran sampel air laut pada daerah cendakir bagan dengan metoda standar adisi.

3.9 Perolehan Kembali

Untuk mengetahui tingkat ketepatan metoda ini perlu dilakukan penentuan nilai perolehan kembali. Sampel yang telah diketahui konsentrasinya diadisi dengan sejumlah larutan standar, kemudian dibandingkan dengan konsentrasi sampel dan standar yang ditambahkan.

Pada penelitian ini nilai perolehan kembali dipelajari dari sampel air laut dari cendakir bagan. Perolehan kembali dilakukan dengan mengukur 10 mL sampel yang telah diketahui konsentrasinya yang didalamnya terdapat larutan standar Zn(II) dengan konsentrasi 2 ppb. Hasil perolehan kembali dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data perolehan kembali Zn pada air laut cendakir dengan AdSV

Tabel 5. Data perolehan kembali Zn pada air laut cendakir dengan AdSV

No	Konsentrasi standar adisi (µg/L)	Konsentrasi sampel sebelum adisi (µg/L)	Konsentrasi sampel setelah adisi (µg/L)	Recovery (%)
1	2	29,228	30,944	99,09
2	2	29,228	30,579	97,92
3	2	29,228	32,126	102,88
Jumlah				299,89
Rata-rata				99,96

Keterangan: A = Konsentrasi sampel

B = Konsentrasi sampel setelah penambahan standar

C = Konsentrasi standar yang ditambahkan

Dari Tabel 5 terlihat bahwa nilai perolehan kembali Zn(II) dengan metoda Stripping Voltametri Adsorptif dan diatur pada kondisi optimum yang telah diteliti adalah 99,96%. Nilai perolehan kembali pada penelitian ini cukup baik karena nilai perolehan kembali yang didapatkan berada pada rentang 60% sampai 115%.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, yaitu Studi Optimasi Penentuan Zn(II) secara Voltametri Stripping Adsorptif didapatkan kondisi optimum pengukuran yaitu; elektrolit pendukung KCl 0,1 M; pengompleks kalkon 0,7 mM ; pH larutan 7; potensial akumulasi -0,7 V; dan waktu akumulasi 50 detik. Hasil penentuan standar relatif yang didapatkan adalah 0,86%. Dari hasil SDR ini dapat disimpulkan bahwa metoda penentuan seng secara AdSV ini memiliki tingkat ketelitian yang tinggi berdasarkan metoda AOAC karena SDR yang diperoleh kecil dari 1%.

Penentuan nilai perolehan kembali juga dilakukan dalam penelitian ini untuk mengetahui ketepatan metoda yang digunakan, dan diperoleh persen perolehan kembali yaitu 99,96% Berdasarkan hasil perolehan kembali yang didapatkan, dapat disimpulkan bahwa metoda ini memiliki ketepatan yang cukup tinggi.

V. UcapanTerimaKasih

Terimakasih kepada Analis Laboratorium Pengukuran Kimia FMIPA Universitas Andalas.

Referensi

1. Palar, H., **1994**, Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat, *RinekaCipta*.
2. Fardiaz, S., **1995**, Polusi Air dan Udara, Kanisius.
3. Darmono, **1995**, Logam dalam Sistem Makhluk Hidup, *Universitas Indonesia*.
4. Strobel, H. A. and Heinemann, W. R., **1989**, Chemical Instrumentation, *A systematic Approach*, 3rd-ed, John Willey and Sons, pp. 1071-1139
5. Meijes, L., **1962**, Handbook of Analytical Chemistry, *Mc.Grow Hill*.
6. Plambeck, **1962**, Electroanalytical Chemistry, *Willey-Inter Science*.
7. Asghari, A, **2008**, Simultaneous determination of trace amounts of lead and zinc by adsorptive cathodic stripping voltammetry, *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 12 (2) : 410 - 418
8. Wang, J., **2000**, *Analytical Electrochemistry*, 2nd -ed, A John Willey and Sons, Inc., Publication, pp. 81-84 and 108-110
9. Burgess, R. R. and Deutscher, M. P., **2009**, *Methods in Enzymology Guide to protein Purificatio*, 2nd ed., *Elsevier*, pp. 50-56.
10. Anderson, L. R., **1987**, *Practical Statistics for Analytical Chemists*, pp. 12-13

PRODUKSI BIOETANOL DARI TONGKOL JAGUNG DENGAN METODA SIMULTAN SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI

Mitra Oktavia, Elida Mardiah, Zulkarnain Chaidir

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: mitra_26102009@yahoo.co.id
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Corn cob is a very abundant and waste containing lignocellulose. Lignocellulosic biomass can be produced into bioethanol. This research aimed to increase the ethanol content of corn cobs with pretreatment using a mixture of NaOH and NH₄OH with simultaneous saccharification and fermentation (SSF) method. 10 g of corn cobs pretreated with a mixture of NaOH and NH₄OH with variations of soaking time. The optimum pretreatment in concentrations of 2 % NaOH and NH₄OH 8 % in 3 days. Saccharification corn cobs using cellulase enzymes from *Aspergillus niger*. Cellulase enzymes tested for their ability to produce glucose from corn cobs with Somogy Nelson method. Production of bioethanol by SSF method using cellulase from *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* were isolated from fermipan. Ethanol concentration was determined by gas chromatography. Fermentation results obtained the optimum concentration of 3.2% ethanol with 96 hours of fermentation.

Keywords: bioethanol, pretreatment, corn cobs, SSF

I. Pendahuluan

Penggunaan bahan bakar fosil yang semakin meningkat mengakibatkan menipisnya ketersediaan minyak bumi sebagai sumber energi. Untuk mengatasi masalah tersebut perlu adanya bahan bakar alternatif pengganti minyak bumi yang terbaru dan lebih ramah lingkungan. Salah satu bahan bakar nabati yang digunakan sebagai alternatif pengganti minyak bumi yaitu bioetanol.¹

Tongkol jagung merupakan limbah lignoselulosa yang banyak mengandung selulosa. Untuk meningkatkan manfaat dari tongkol jagung maka pada penelitian ini dilakukan produksi bioetanol dari tongkol jagung.

Produksi bioetanol melalui beberapa proses diantaranya adalah pretreatment, sakarifikasi, dan fermentasi. Pada penelitian

ini dilakukan pretreatment dengan campuran NaOH 2 % dan NH₄OH 2, 4, 8, dan 10 % dengan lama perendaman 1, 2, dan 3 hari. NaOH merupakan basa kuat yang mampu melepaskan lignin dengan cepat. Pada konsentrasi di atas 2 % dan suhu tinggi 121°C, NaOH dapat mengakibatkan degradasi karbohidrat. NH₄OH adalah basa lemah yang juga mampu melepaskan lignin dan tidak merusak karbohidrat, tetapi perendaman dengan NH₄OH membutuhkan waktu yang cukup lama.^{2,3,4}

Penelitian yang dilakukan oleh H.D Zakpaa, dkk (2010) telah berhasil mendapatkan konsentrasi bioetanol tertinggi sebanyak 0,64 g/ L dari tongkol jagung menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* dengan metoda simultan sakarifikasi dan fermentasi (SSF).⁶ Selain itu, Zhuang Zuo, dkk (2012) memproduksi bioetanol dari tongkol jagung

dengan melakukan pretreatment terlebih dahulu dengan campuran NaOH dan NH₄OH. Produksi bioetanol menggunakan *Phichia stipitis* dan proses sakarifikasi menggunakan enzim murni (Novozyme 188). Konsentrasi etanol tertinggi yang didapatkan sebanyak 36,1 g/ L. Mahalnya harga enzim murni akan memperbesar biaya produksi bioetanol.³ Pada penelitian ini proses sakarifikasi dilakukan memakai enzim selulase yang diproduksi dari *Aspergillus niger*. Untuk memperoleh etanol digunakan metoda simultan sakarifikasi dan fermentasi (SSF). Pada metoda ini sakarifikasi enzimatik dan fermentasi terjadi secara bersamaan. Glukosa yang dihasilkan dari proses sakarifikasi langsung diubah menjadi etanol sehingga waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan etanol lebih cepat daripada hidrolisis dan fermentasi terpisah (SHF). Pengaruh inhibitor oleh konsentrasi glukosa yang tinggi pada proses sakarifikasi dapat diatasi. Ada beberapa cara pembuatan produksi bioetanol, diantaranya adalah

1. *Separate hidrolisis and fermentation (SHF)*

Proses produksi bioetanol dimana hidrolisis selulosa dan fermentasi dilakukan dalam unit yang berbeda. Keuntungan utama dari proses ini adalah kemampuan untuk melakukan hidrolisis dan fermentasi dalam kondisi yang optimal, misalnya hidrolisis enzimatik pada suhu 40-50 °C, fermentasi pada suhu 30-40°C. Kerugiannya adalah gula yang telah terhidrolisis dalam jumlah banyak dapat menghambat aktifitas enzim selulase.⁵

2. *Simultaneous saccharification and fermentation (SSF)*

Hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu unit/ reaktor. Keuntungan menggunakan metoda ini adalah enzim yang digunakan sedikit, waktu untuk pembentukan etanol lebih cepat. Kelemahan dalam proses ini adalah suhu optimum untuk selulase dan mikroorganisme berbeda.⁶

3. *Simultaneous saccharification and co-fermentation (SSCF)*

Proses SSCF ini menggabungkan antara hidrolisis enzim dan fermentasi yang dilakukan serentak di dalam satu reaktor. Dimana hidrolisis selulosa, hemiselulosa dan fermentasi heksosa, pentosa terjadi bersamaan dalam satu reaktor. Dalam proses ini, yang harus diperhatikan adalah kedua mikroorganisme fermentasi harus sesuai dengan pH dan suhu.⁷

4. *Consolidated bioprocessing (CBP)*

Metoda dengan menggabungkan produksi selulase, sakarifikasi, dan fermentasi menjadi satu langkah. Dimana satu organisme yang melakukan sakarifikasi dan fermentasi.⁸

II. Metodologi Penelitian

2.1. *Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tongkol jagung, natrium hidroksida (NaOH) 2 % (Merck), natrium hidroksida (NaOH) 5 % (Merck), ammonium hidroksida (NH₄OH) (Merck), jamur *Aspergillus niger*, ragi dari fermipan, natrium karbonat (Na₂CO₃) (Merck), natrium sulfat (Na₂SO₄) (Merck), tembaga sulfat pentahidrat (CuSO₄.5H₂O) (Merck), asam sulfat pekat (H₂SO₄) p.a (Merck), asam pospat (H₃PO₄) (Merck).

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (GENESYS20), Kromatografi Gas (GC 2010 SHIMADZHU), autoklaf, inkubator, timbangan analitis, hot plate, peralatan gelas, petridish, jarum ose, spiritus, penggiling, oven, ayakan, sentrifus dan shaker.

2.2. *Prosedur penelitian*

A. *Isolasi dan Pemurnian Saccharomyces cerevisiae*

Ragi roti sebanyak 1 g diencerkan sampai 10⁻⁸ dengan aquadest steril, kemudian dituang dan diratakan di permukaan medium PDA di dalam cawan petridish. Setelah itu, diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. Diamati pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada cawan petridish. Pemurnian dilakukan tiga kali

pemindahan ke dalam media yang baru sehingga diperoleh *Saccharomyces cerevisiae* murni. Koloni *Saccharomyces cerevisiae* yang telah murni diambil 1 jarum ose lalu diinokulasikan ke dalam media PDA miring.

B. Pretreatment tongkol jagung dengan Campuran NaOH dan NH₄OH

Tongkol jagung dipotong menjadi potongan-potongan kecil. Kemudian dijemur dan dihaluskan dengan gerinda. Kemudian diayak sehingga menjadi bubuk halus. Sampel dengan berat 10 g direndam di dalam 100 mL campuran larutan ammonium hidroksida (NH₄OH) dan natrium hidroksida (NaOH) dengan variasi konsentrasi NaOH 2% dan NH₄OH 2, 4, 8, dan 10 % pada suhu kamar (28° C) selama 24, 48, dan 72 jam. Campuran disaring, dicuci berulang kali dengan menggunakan air suling sampai pH netral untuk menghilangkan sisa dari campuran NaOH dan NH₄OH. Sisa yang didapat dikeringkan hingga mencapai berat konstan pada suhu 105° C dalam oven selama 6 jam.^{3,4}

C. Produksi dan Pengujian Aktifitas Enzim Selulase

Aspergillus niger yang telah diremajakan selama 3 hari dalam medium agar miring ditambahkan dengan 10 mL 0,1 % Tween 80 steril. Kemudian dicampurkan dengan medium produksi enzim, diinkubasi selama 3 hari. Setelah itu, disentrifugasi pada 6000 x g selama 15 menit pada suhu 4° C. Kultur supernatan digunakan sebagai sumber enzim ekstraseluler kasar.

D. Penentuan aktifitas enzim dengan substrat CMC

Carboxymethyl cellulose (CMC) digunakan sebagai substrat enzim. Campuran reaksi yang mengandung 2,0 mL dari 0,1% (b/ v) CMC dalam buffer natrium asetat 0,1 M (pH 5,0) dan 2,0 mL ekstrak kasar enzim. Campuran diinkubasi pada suhu 40° C dalam penangas air dengan pengocokan selama 30 menit. Konsentrasi glukosa yang dihasilkan ditentukan dengan metode Somogy Nelson. Sebanyak 1 mL larutan hasil sakarifikasi dimasukkan ke dalam

tabung reaksi. Sebagai blanko digunakan 1 mL aquades. Ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL reagen-Nelson kemudian dipanaskan pada air mendidih 20 menit. Setelah itu pindahkan tabung reaksi ke dalam air dingin hingga suhu larutan ± 25°C, lalu ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan 7 mL aquadest. Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit, setelah itu ukur absorban pada panjang gelombang 580 nm dengan spektrofotometer UV-VIS.⁹

E. Sakarifikasi Enzimatik Tongkol Jagung

Sakarifikasi enzimatik tongkol jagung oleh ekstrak enzim kasar *Aspergillus niger* dilakukan selama 30 menit. Tiga mililiter (3,0 mL) dari 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3% (b/v) dari masing-masing sampel dalam buffer natrium asetat 0,1 M (pH 5,0) dan 3,0 mL kultur supernatan diinkubasi pada suhu 40° C dalam penangas air dengan pengocokan selama 30 menit. Konsentrasi glukosa hasil sakarifikasi ditentukan dengan metoda Somogy Nelson. Setelah dapat optimumnya dilakukan variasi lama sakarifikasi 30 sampai 120 menit.

F. Persiapan inokulum ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 3 jarum ose diinokulasikan dari agar miring ke dalam medium medium Yeast Peptone Dextrose (YPD) diinkubasi pada suhu kamar dengan shaker 130 rpm selama 48 jam. Diambil 10 mL kaldu disentrifugasi pada 4500 rpm selama 5 menit. Supernatan dituangkan, pellet ditambahkan dengan 10 mL akuades steril, disentrifugasi dan supernatan dituang. Perlakuan dengan akuades dilakukan 2 kali. Pelet yang diperoleh ditambahkan 10 mL buffer sitrat 50 mM pH 5,0 dan digunakan sebagai inokulum.¹⁰

G. Variasi lama fermentasi pada SSF

Tiga gram bubuk tongkol jagung, 1,0 g ekstrak ragi dan 2,0 g pepton ditempatkan di masing-masing labu Erlenmeyer 250 mL, buffer sitrat 50 mM, pH 5,0 ditambahkan untuk membentuk suspensi 80 mL. Kemudian diautoklaf pada 121°C selama 20

menit. Setelah dingin pada temperatur kamar, 10 mL dari filtrate kultur *Aspergillus niger* dan 10 mL inokulum *S. cerevisiae* dimasukkan ke tiap erlenmeyer. Erlenmeyer diinkubasi pada suhu kamar dishaker pada 110 rpm selama 48, 72, 96, 120 jam. Kemudian disentrifugasi pada 10000 g selama 10 menit dan supernatan didestilasi. Destilat disimpan untuk analisis etanol pada gas kromatografi.¹¹

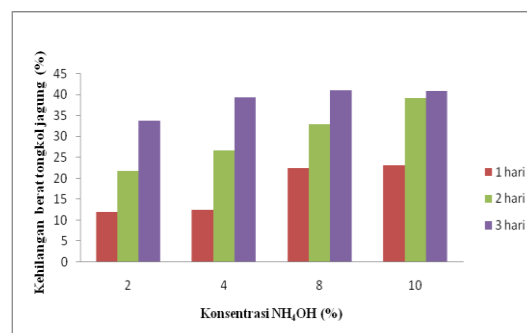
H. Penentuan Konsentrasi Etanol dengan Kromatografi Gas

Konsentrasi etanol ditentukan dengan menggunakan Kromatografi Gas (GC 2010 SHIMADZHU), dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala (FID). Digunakan sebuah kolom kromatografi dengan panjang kolom 30 m dan diameter 0,25 mm. Gas pembawanya N₂ (nitrogen) dengan laju alir 136,3 mL/ menit dan tekanan 100 kPa. Suhu injektor, suhu kolom dan suhu detektor masing-masing 150, 60-240, 200 °C. Volume yang disuntikkan 1 µl. Identifikasi dan kuantifikasi didasarkan pada perbandingan langsung kromatogram gas dengan standar etanol. Standar etanol yang digunakan adalah etanol p.a 96 %.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pretreatment Tongkol Jagung dengan Campuran NaOH dan NH₄OH

Dari kurva pada Gambar 1 dapat dilihat terjadi persentase bertambahnya berat tongkol jagung yang hilang dengan semakin tingginya konsentrasi NH₄OH. Hal ini dikarenakan semakin sempurnanya NaOH dan NH₄OH untuk memutuskan ikatan lignin. Semakin tinggi konsentrasi NH₄OH maka kehilangan berat tongkol jagung yang didapat semakin konstan. Artinya telah optimum NaOH dan NH₄OH untuk melepaskan lignin. Kehilangan berat tongkol jagung yang optimum terdapat pada perendaman 3 hari dengan konsentrasi NaOH 2 % dan NH₄OH 8 %.

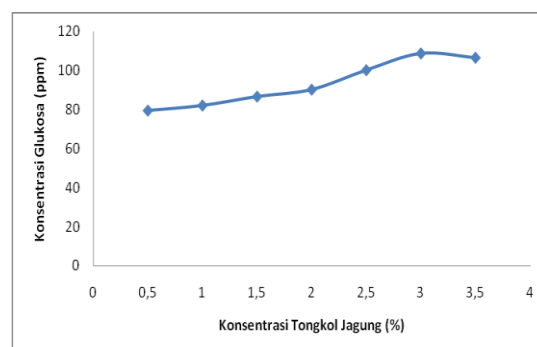


Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi NH₄OH dengan kehilangan berat tongkol jagung

3.2 Hasil Aktifitas Enzim dengan Substrat CMC

CMC yang dipakai sebanyak 0,1 % dalam buffer natrium asetat 0,1 M pH 5,0. Konsentrasi glukosa ditentukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi yang terukur ke dalam persamaan regresi yang diperoleh dari perhitungan kurva standar glukosa. Konsentrasi glukosa yang didapatkan adalah 185,4 ppm. Aktifitas enzim dengan substrat CMC didapatkan 3,09 unit.

3.3 Pengaruh Konsentrasi Substrat Tongkol Jagung Terhadap Konsentrasi Glukosa

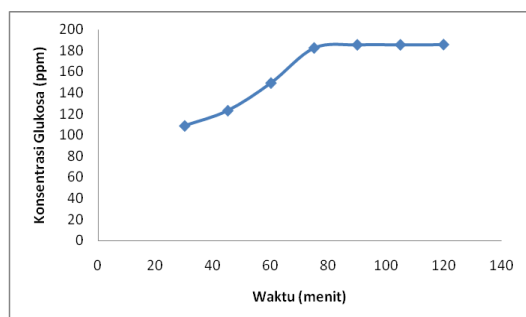


Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi tongkol jagung terhadap konsentrasi glukosa

Dari Gambar 2 di atas banyaknya substrat akan mempengaruhi konsentrasi glukosa yang didapat. Untuk mengetahui kemampuan enzim selulase dari *Aspergillus niger* merubah selulosa pada tongkol jagung menjadi glukosa maka ditentukan konsentrasi glukosa hasil sakarifikasi dengan konsentrasi substrat tongkol jagung yang bervariasi. Pada variasi konsentrasi

tongkol jagung yang dilakukan, sudah terlihat perubahan konsentrasi glukosa yang dihasilkan mulai dari 0,5–3 % terjadi kenaikan konsentrasi glukosa karena semakin banyak selulosa yang bisa diubah menjadi glukosa. Akan tetapi, pada konsentrasi tongkol jagung 3,5 % tidak terjadi kenaikan konsentrasi glukosa karena waktu sakarifikasi yang dibatasi 30 menit, tidak memungkinkan lagi terjadinya reaksi enzim dengan tongkol jagung. Konsentrasi glukosa optimum terdapat pada konsentrasi 3 %.

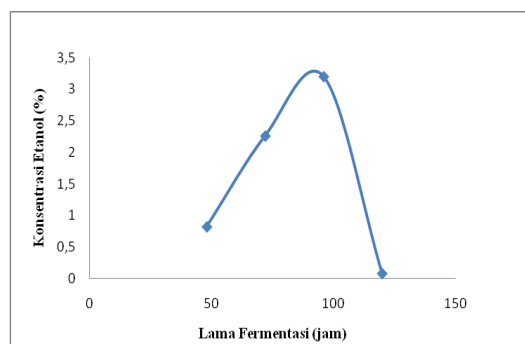
3.4 Pengaruh Lama Sakarifikasi Terhadap Konsentrasi Glukosa



Gambar 3. Grafik hubungan lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa

Dari gambar 3 dapat dilihat terjadi peningkatan konsentrasi glukosa dari 30 menit sampai 90 menit. Kenaikan ini lebih signifikan dibandingkan dari waktu 90 menit sampai 120 menit. Hal ini dikarenakan telah optimumnya sisi aktif enzim bertumbukan dengan substrat. Walaupun lama sakarifikasi ditingkatkan tetap saja konsentrasi glukosa tidak terlalu berubah. Banyaknya substrat yang mengandung selulosa untuk diubah menjadi glukosa oleh enzim selulase telah merata. Konsentrasi glukosa tertinggi adalah 185,6 ppm untuk lama sakarifikasi 90 menit.

3.5 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Konsentrasi Etanol



Gambar 4. Grafik hubungan lama fermentasi terhadap konsentrasi etanol

Pada gambar 4 ada peningkatan konsentrasi etanol selama waktu 48 jam sampai 96 jam. Akan tetapi, ketika waktu 120 menit konsentrasi etanol menurun drastis. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap hasil bioetanol, karena semakin lama waktu fermentasi akan meningkatkan kadar bioetanol. Namun, bila fermentasi terlalu lama nutrisi dalam substrat akan habis dan *Saccharomyces cerevisiae* tidak lagi dapat memfermentasi glukosa sehingga kekurangan makanan yang mengakibatkan kinerjanya menurun dan mengakibatkan kadar bioetanol yang dihasilkan akan menurun juga. Ini berarti optimum etanol adalah pada waktu 96 jam dengan konsentrasi 3,2 %

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pretreatment optimum untuk melepaskan lignin adalah pada konsentrasi NaOH 2 % dan NH₄OH 8 % dengan lama perendaman selama 3 hari. Aktifitas enzim selulase dari *Aspergillus niger* dengan substrat CMC 0,1 % adalah 3,09 unit. Konsentrasi glukosa optimum didapatkan 185,6 ppm pada konsentrasi tongkol jagung 3 % dan lama sakarifikasi 90 menit. Dengan metoda SSF didapatkan konsentrasi etanol maksimum 3,2 % dengan destilasi selama 2 jam, hasil destilatnya sekitar 2 ml dengan lama fermentasi 96 jam.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Morais, S.; Morag, E.; Barak, Y.; Goldman, D.; Hadar, Y.; Lamed, R.; Shoham, Y.; Wilson, D. B.; Bayer, E. A. **2012**, Deconstruction of lignocellulose into soluble sugars by native and designer cellulosomes. *mBio*, Vol 3. No 6.
2. Tae Hyun Kim , F. T., Kevin B. Hicks, **2008**, Bioethanol Production from Barley Hull Using SAA (Soaking in Aqueous Ammonia) Pretreatment. *Bioresource technology*, Vol 99, pp. 5694-5702.
3. Zuo, Z.; Tian, S.; Chen, Z.; Li, J.; Yang, X., **2012**, Soaking pretreatment of corn stover for bioethanol production followed by anaerobic digestion process. *Applied biochemistry and biotechnology*, Vol 167. No 7, pp. 2088-102.
4. Ziyu Wang, D. R. K., Arthur P. Redding, Jay J. Cheng, **2010**, Sodium Hydroxide Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Coastal Bermuda Grass. *Biological Systems Engineering*. Vol 143.
5. Mohamad, A. I. a. S. E., Bioethanol From Second Generation Feedstock (Lignocellulose Biomass). **2011**, *Interdisciplinary Journal Of Contemporary Research In Business*. Vol 3. No 8. pp. 919-935.
6. Kerstein Stenberg, M. G., Guido Zacchi, The influence of lactic acid formation on the simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of softwood to ethanol. **2000**, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol 26. No 2, pp. 71-79.
7. Sri Rezeki Muriaa , P. S. S., Chairul, Misri Gozan, Hendri Salmi, Said Zul Amraini, Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) untuk Produksi Bioetanol dari Limbah Padat Industri Pulp dan Paper. **2011**, *STU*, Hal 1-5.
8. Kim, S.; Baek, S. H.; Lee, K.; Hahn, J. S., Cellulosic ethanol production using a yeast consortium displaying a minicellulosome and beta-glucosidase. **2013**, *Microbial cell factories*. Pp. 12, 14.
9. S. N. Chinedu, S. C. Y., O. C. Nwinyi, V. I. Okochi, U. A. Okafor and B. M. Onyegeme- Okerenta, **2008**, Plant Waste Hydrolysis by Extracellular Enzymes of *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*: Effect of Ammonia Pretreatment. *Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. Vol 23 No. 1, pp. 1-7.
10. H. D. Zakpaa, E. E. M.-M. a. F. S. J., **2009**. Production of bio-ethanol from corncobs using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous saccharification and fermentation. *African Journal of Biotechnology*, Vol 8. No 13, pp. 3018-3022.
11. N. Dowe and J. McMillan. **2008**, SSF Experimental protocols- lignocellulosic biomass hydrolysis and fermentation. *Laboratory analytical procedure*. pp. 1-16.

FERMENTASI ANAEROB DARI CAMPURAN KOTORAN AYAM DAN KOTORAN SAPI DALAM PROSES PEMBUATAN BIOGAS

Try Sutrisno Wibowo^a, Abdi Dharma^a, Refilda^b

^aLaboratorium Biokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^bLaboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: abdi11750@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Biogas is gas produced by biology activity through anaerob fermentation and that is new energy. Materials of biogas production are chicken waste (KA) and cow waste (KS) as the inoculum, which is the pollution caused by these wastes have negative effect for environment. The more biogas production produced by using Floating Dome method. Anaerob fermentation process is done in biodigester with 3 variations, they were KA : KS 80 : 20 ; KA : KS 70 : 30; KA : KS 50 : 50. The variation were made to observe production of optimum methane gas in each biodigester. Ratio KA : KS 50 : 50 produced the highest volume of biogas, because full filled optimum condition that is ratio of carbon and nitrogen as 30,294. The volume of biogas in this ratio was 1,67 L with the content of methane was 60 %

Keywords : *Biogas, Anaerobic fermentations, Chicken waste, Cow waste.*

I. Pendahuluan

Beberapa tahun terakhir ini energi merupakan persoalan yang krusial didunia. Peningkatan permintaan energi yang disebabkan oleh pertumbuhan populasi penduduk dan menipisnya sumber cadangan minyak dunia, serta permasalahan emisi dari bahan bakar fosil memberikan tekanan kepada setiap negara untuk segera memproduksi dan menggunakan energi terbarukan. Salah satu sumber energi terbarukan dan jadi alternatif tersebut adalah biogas. Biogas merupakan gas hasil aktivitas biologi melalui proses fermentasi anaerob yang terjadi di dalam biodigester. Gas ini berasal dari berbagai macam limbah organik seperti sampah biomassa, kotoran manusia, kotoran hewan, limbah domestik (rumah tangga), sampah *biodegradable* atau setiap limbah organik yang *biodegradable* dalam kondisi anaerob dapat dimanfaatkan menjadi energi melalui proses anaerob. Proses ini merupakan peluang besar untuk menghasilkan energi alternatif sehingga akan mengurangi dampak penggunaan bahan bakar fosil¹.

Kandungan biogas didominasi oleh gas metana (CH₄) yang merupakan hasil sampingan dari proses degradasi bahan organik, seperti: kotoran ternak, manusia, sampah, dan sisa-sisa limbah lainnya. Pemanfaatan kotoran ternak selain dapat menghasilkan biogas untuk bahan bakar, juga membantu kelestarian lingkungan dan memperoleh manfaat-manfaat lain, seperti : pupuk yang baik untuk tanaman, mencegah lalat, dan bau tidak sedap yang berarti ikut mencegah sumber penyakit².

Banyaknya usaha peternakan ayam yang berada di lingkungan masyarakat dirasakan mulai mengganggu warga, terutama peternakan ayam yang lokasinya dekat dengan pemukiman penduduk. Masyarakat banyak mengeluhkan dampak buruk dari kegiatan usaha peternakan ayam ras karena masih banyak peternak yang mengabaikan penanganan limbah dari usahanya. Limbah peternakan ayam ras berupa feses, sisa pakan, air dari pembersihan ternak menimbulkan

pencemaran lingkungan masyarakat di sekitar lokasi peternakan tersebut.

Pengolahan kotoran ayam menjadi biogas, sudah dilakukan beberapa tahun terakhir ini. Mulai dari negara berkembang sampai negara maju sekalipun, seperti India, Saudi Arabia, Perugia, Italy, dan lain - lain. Hal ini sangat berdampak positif bagi sumber energi maupun lingkungan. Pemanfaatan kotoran ayam menjadi biogas sudah dilakukan sebelumnya dengan parameter uji yang berbeda dengan peneliti kerjakan. Disini, parameter yang digunakan, seperti : pengukuran pH, total solid (TS) , padatan volatil solid (VS), dan pengukuran komposisi gas menggunakan gas kromatografi (GC)³.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan Kimia, Peralatan dan Instrumentasi

Bahan yang digunakan diantaranya : kotoran ayam, kotoran sapi, akuades, H₂SO₄ 95% (Merck), HCl 0,05 N, selenium mixture, NaOH, asam borat 1 %, glukosa, indikator conway, air. Sedangkan, alat yang digunakan diantaranya : distilasi Bruchgefaher, T 70 spektrofotometer UV-Vis 580,5 nm, oven, kertas saring, aluminium foil, desikator, pH meter, termometer, selang plastik, jerigen 20 L, kran, balon penampung gas, timbangan, saringan minyak, kayu pengaduk, gayung, ember, korek api, gelas ukur 1 L, pipet takar 10 mL, pipet gondok 10 mL, gelas ukur 50 mL, dan gelas piala 500 mL.

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1. Penyediaan sampel

Sampel kotoran ayam diambil di Kelurahan Pisang, Kec. Pauh-kuranji Kota Padang pada peternakan ayam, sedangkan feses sapi yang digunakan pada penelitian ini diambil di UPT Fakultas Peternakan Universitas Andalas.

2.2.2 Unit Rangkaian Alat Biogas

Rangkaian alat pembentukan biogas yang digunakan dalam penelitian ini berkapasitas skala laboratorium ini adalah digester system *batch* (hanya sekali pengisian bahan baku) sebanyak enam unit. Satu unit instalasi biogas tersebut terdiri dari jerigen plastik volume 20 liter. Pada tangki ini terdapat satu buah pentil penyambung selang plastik, pada ujung

selang diberi pentil tubes agar terhubung pada balon penampung gas.

2.2.3 Persiapan starter

Starter dibuat dari campuran kotoran sapi dan air dengan perbandingan 1 : 1,5. Untuk setiap 1 kg kotoran sapi ditambahkan air sebanyak 1,5 L. Starter dimasukkan ke dalam jerigen dan dibiarkan selama 1 minggu.

2.2.4 Penentuan Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metoda gravimetri.

2.2.5 Pembentukan Biogas

Variasi campuran yang telah dibuat masing - masingnya dimasukkan ke dalam jerigen yang ditutup rapat. Dibiarkan fermentasi berlangsung sampai 40 hari.. Gas yang terbentuk akan terlihat pada balon penampung. Gas yang terbentuk ini diukur volumenya dengan metoda *floating dome*.

$$\text{Vol Ember (vol Kerucut terpancung)} = \frac{1}{3} \cdot \pi \cdot t \cdot (R^2 + Rr + r^2)$$

Dengan:

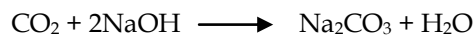
T = jarak lingkaran besar ke lingkaran kecil

R = jari-jari lingkaran Besar

r = jari-jari lingkaran kecil

2.2.6 Pemisahan CO₂

Disini, proses absorpsi dilakukan dalam bejana U, yang berisi larutan NaOH 20% yang diserap oleh Syringe. Bila pelarut yang digunakan adalah NaOH maka absorpsi yang terjadi akan secara kimia, dikarenakan terjadinya reaksi kimia secara langsung antara CO₂ dengan larutan NaOH. Proses absorpsi atau pemisahan gas CO₂ oleh NaOH dapat dilihat pada reaksi berikut ini :



Reaksi kimia yang terjadi adalah *ineversible*, dimana CO₂ pada fase gas akan diabsorpsi oleh larutan NaOH pada fase cair. Pada saat gas mendekati interfase cair, gas CO₂ akan larut dan langsung bereaksi dengan larutan NaOH. Hasil pemisahan ini, menghasilkan CH₄, H₂S, dan sebagainya⁴.

2.2.7 Pembuatan variasi campuran

Dalam penelitian ini akan dilakukan 3 variasi campuran kotoran ayam (sampel) dan kotoran sapi (starter), yaitu perbandingan 80 : 20, 70 : 30 dan 50 : 50. Digester yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah jerigen 20 L. Untuk pembuatan biogas ini jerigen hanya akan diisi sebanyak 10 kg, dengan isi an 5 L air dan 5 kg lagi diisi dengan campuran sampel dan kotoran sapi. Untuk perbandingan sampel dan starter dapat dilihat pada **tabel 1** di bawah ini :

Tabel 1. Pembuatan Variasi Campuran

No	Sampel : Starter (Kg)	Sampel (Kg)	Starter (Kg)
1	80 : 20	4	1
2	70 : 30	3,5	1,5
3	50 : 50	2,5	2,5

2.2.8. Analisis sampel

2.2.8.1. Analisis kadar carbon (Walkey & Black)

Metode Walkey & Black, dimana bahan organik dioksidasi oleh kalium dikromat berlebih diberikan untuk mengoksidasi bahan organik. Karbon sebagai senyawa organik akan mereduksi Cr^{6+} yang berwarna jingga menjadi Cr^{3+} yang berwarna hijau dalam suasana asam. Intensitas warna hijau yang terbentuk setara dengan kadar karbon dan dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580,5 nm.

2.2.8.2. Analisis kadar nitrogen(N-Kjeldahl)

Penentuan jumlah nitrogen (N) yang dikandung oleh suatu bahan dengan cara mendegradasi protein bahan organik menggunakan asam sulfat pekat, untuk menghasilkan nitrogen sebagai ammonia. Selanjutnya, menghitung jumlah nitrogen yang terlepas sebagai ammonia, dengan mengkonversikannya ke dalam kadar protein dengan mengalikannya dengan konstanta tertentu ⁵.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil analisis kadar carbon (Walkey & Black)

Pada analisis kadar carbon kotoran ayam dan campurannya dapat dilihat pada **tabel 2**.

Tabel 2. Kadar carbon pada sampel dan variasi campuran.

No	Parameter	Kadar Carbon (%)
1	80 : 20	6,457
2	70 : 30	5,786
3	50 : 50	5,15

Dari hasil terlihat, kandungan carbon optimum pada perbandingan 80 : 20 dengan nilai 6,457 %. Dengan pertambahan jumlah kandungan kotoran sapi, dapat mengurangi kadar carbon.

Kadar carbon dalam kotoran ayam, tergantung dari asupan makanan dan lingkungan ayam. Dengan menaikkan tingkat produksi biogas melalui penambahan bahan organik lainnya seperti kotoran sapi. Kadar persen carbon, sangat berpengaruh kepada aktifnya mikroorganisme. Dimana tingginya kadar karbon, dapat mempengaruhi nutrisi bagi kehidupan mikroorganisme. Dalam penelitian ini menggunakan penambahan kotoran sapi sebagai inokulumnya, karena kotoran sapi sangat efisien dalam produksi biogas, yang dapat menaikkan rasio C/N.

Pada penelitian sebelumnya oleh Fantozzi et.al (2009), didapatkan kadar carbon kotoran ayam 15,39 %⁶. Nilai ini cukup jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan yaitu 4,84 %. Pada penelitian dari Ahn (2008) menghasilkan kadar carbon 18,1 %. Hal ini disebabkan pengaruh makanan ayam yang diberikan berbeda, juga lingkungan hidup keberadaan ayam yang berlainan. Menyebabkan kadar carbon, yang dilakukan pada penelitian sebelumnya menjadi tinggi pula. Dengan perbedaan kondisi tersebut, dapat mempengaruhi nilai karbon pada kotoran ayam⁷.

Carbon yang akan masuk dalam proses metabolisme mikroba, berperan sebagai sumber energi bagi mikroorganisme dan akan menjadi salah satu penyusun elemen sel. Oleh karena itu, karbon lebih dibutuhkan jika dibandingkan dengan nitrogen. Pada umumnya, 2/3 karbon direspirasikan menjadi CO_2 dan 1/3 lainnya dikombinasikan dengan nitrogen di dalam sel. Mikroorganisme menggunakan N, P dan nutrisi lainnya untuk

membuat komponen sel namun mereduksi N organik menjadi asam organik dan ammonia. Karbon dari material organik yang tidak digunakan di dalam sel protein akan dibebaskan khususnya untuk memproduksi gas metan dan sedikit CO₂.

3.2. Hasil analisis kadar nitrogen (N-Kjeldahl)

Analisis kadar nitrogen pada kotoran ayam dan variasi campurannya yang didapatkan dapat dilihat pada **tabel 3**.

Tabel 3. Kadar nitrogen pada sampel dan variasi campuran.

No	Parameter	Kadar Nitrogen (%)
1	80 : 20	0,332
2	70 : 30	0,258
3	50 : 50	0,17

Pada pencampurannya, didapatkan variasi 80 : 20 memiliki kadar nitrogen tertinggi. Dimana, dengan cara mendegradasi protein bahan organik dengan penambahan asam sulfat pekat untuk menghasilkan nitrogen sebagai ammonia. Kadar nitrogen yang didapatkan pada penelitian sebelumnya El-Hadidi et.al (2007) adalah 2,53 %. Nilai ini jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan adalah 0,284 %. Dengan rendahnya kadar nitrogen dalam sampel, maka biogas yang dibentuk juga semakin sedikit. Dimana senyawa nitrogen sangat dibutuhkan sebagai sumber energi (nutrien) untuk perkembangbiakan mikroorganisme pengurai.

Nitrogen di dalam substrat memiliki beberapa keuntungan diantaranya menyediakan elemen penting bagi sistesis asam amino, menetralisasi asam volatil yang diproduksi oleh bakteri fermentasi dan juga membantu pencapaian pH netral. Jumlah nitrogen seharusnya berada dalam batas cukup sebagai nutrien. Jika jumlah nitrogen terlalu banyak, nitrogen tersebut akan terkonversi menjadi amonia yang bersifat toksik⁸.

3.3. Analisis C/N sampel dan campuran

Rasio C/N dari sampel kotoran ayam dan campurannya dapat dilihat pada **tabel 4**.

Tabel 4. Kadar C/N sampel dan campuran

No	Sampel : Starter (Kg)	Kadar C (%)	Kadar N (%)	C/N
1	80 : 20	6,457	0,332	19,448
2	70 : 30	5,786	0,258	22,426
3	50 : 50	5,15	0,17	30,294

Dapat dilihat, perbandingan rasio C/N sampel dan variasi campuran pada tabel 4. Pada hasil tersebut terlihat bahwa kandungan C/N dari sampel kotoran ayam belum baik dalam pembentukan biogas yaitu 17,04 %. Dengan rendahnya kandungan C/N, maka nitrogen akan bebas dan berakumulasi dalam bentuk amoniak sehingga akan menyebabkan bau busuk. Juga, semakin rendahnya C/N dari suatu bahan isian, maka semakin rendah pula produksi biogas yang dihasilkan. Maka dari itu, diperlukan tambahan bahan lain yang memiliki carbon atau serat tinggi, seperti kotoran sapi. Dengan, dicampurkannya sampel kotoran ayam dengan kotoran sapi dalam masing-masing digester, pada variabel tertentu. Didapatkan, pada variasi 50 : 50 memiliki rasio C/N paling tertinggi yaitu 30,294, ini dikarenakan kotoran sapi sebagai pencampurannya sangat membantu menaikkan kadar nitrogen didalam campuran, yang akan mempercepat pembentukan biogas.

3.4. Penentuan kadar air

Tabel 5. Kadar air dan faktor koreksi sampel dan campuran.

Sampel : Starter (Kg)	Massa Sampel Awal (g)	Massa Sampel Akhir (g)	Kadar Air (%)	Faktor Koreksi (%)
80 : 20	5,002	1,849	63,035	2,705
70 : 30	5,001	2,3	54,009	2,174
50 : 50	5,001	2,924	41,532	1,710

Dari tabel kadar air dan faktor koreksi diatas dapat dilihat bahwa variasi sampel kotoran ayam mempunyai kadar air yaitu 58,048 %. Nilai ini lebih rendah dibandingkan penelitian sebelumnya dari substrat awal adalah berkisar 90%. Kadar air mempengaruhi proses

dekomposisi secara biologis, terutama dalam hal pencampuran (*mixing*), ketersediaan nutrisi dan menjaga agar temperatur konstan. Air penting untuk proses fermentasi metana karena digunakan sebagai pelarut nutrisi bagi mikroorganisme. Kadar kelembaban tidak hanya bertujuan untuk pergerakan bakteri tetapi juga mempengaruhi transport massa dalam *high-solids bed* serta keseimbangan produksi *volatile fatty acids* oleh bakteri asidogenik dan konversi asam menjadi metana oleh bakteri metanogen.

3.5. Volume biogas

Tabel 6. Volume produksi biogas

No	Parameter	Produksi Biogas
1	80 : 20	0,98 L
2	70 : 30	1,34 L
3	50 : 50	1,67 L

Produksi biogas tertinggi pada perbandingan 50 : 50 sebesar 1,67 L. Ini bisa disebabkan adanya pencampuran yang sebanding antara sampel dengan inokulum. Begitu juga dengan penelitian sebelumnya oleh Adeniran et.al (2012) didapatkan hasil optimum dari perbandingan (50 : 50) sebesar 7,49 mL pada hari ke-6. Dimana inokulum sangat berperan dalam nilai C/N dan produksi gas metana yang dihasilkan⁹.

Biogas terendah terdapat pada perbandingan 80 : 20, karena isian tangki pencernaan konsentrasi airnya rendah. Hal ini menyebabkan bakteri penghasil metana tidak dapat berkembang dengan baik. Jika terlalu rendahnya konsentrasi air didalam campuran, maka akan terjadi akumulasi asam - asam asetat yang menyebabkan terjadinya hambatan pada saat fermentasi berlangsung, yang pada akhirnya mempengaruhi produksi biogas, disamping itu akan terbentuk padatan pada dinding biodigester.

Dengan diberikannya kotoran sapi, dapat meningkatkan volume biogas. Hal ini disebabkan karena kandungan rasio C/N dapat meningkat dengan penambahan kotoran sapi. Semakin rendah rasio C/N dari suatu bahan isian maka semakin rendah

produksi gas yang dihasilkan. Rasio C/N yang optimal dalam pembentukan biogas adalah 30 dan semakin dekat dengan nilai tersebut, volume biogas yang dihasilkan juga semakin meningkat.

3.6 Pemisahan CO₂

Nilai CO₂ dan CH₄ dapat dilihat pada **tabel 7**.

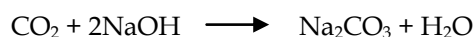
Tabel 7. Tabel perbandingan antara kadar CO₂ dan metana.

No	Sampel : Starter (Kg)	Biogas total (L)	Kadar CO ₂ (%)	Kadar CH ₄ (%)
1	80 : 20	0,98	50	50
2	70 : 30	1,34	43,33	56,67
3	50 : 50	1,67	40	60

Adanya CO₂ menyebabkan efisiensi panas yang dihasilkan rendah, sehingga kualitas nyala api kurang optimal. Untuk mengurangi kadar CO₂ perlu dilakukan pemurnian. Pada penelitian ini pemurnian dilakukan dengan melakukan penyerapan CO₂ menggunakan NaOH 20 %. Gas CO₂ akan langsung bereaksi dengan NaOH membentuk Na₂CO₃ dan H₂O.

Pada perbandingan 80 : 20, bakteri methanogen kurang aktif bekerja, yang dapat menghasilkan kandungan CO₂ sama dengan kandungan metana. Kandungan gas metana maksimum terdapat pada 50 : 50. Pada penelitian sebelumnya oleh Sinkora (2011) didapatkan % kandungan metana sebesar 60%. Hasil itu sama dengan % metana yang didapatkan pada penelitian ini.

Proses absorpsi atau pemisahan gas CO₂ oleh NaOH dapat dilihat pada reaksi berikut ini :



Absorpsi di atas merupakan reaksi yang terjadi secara kimia, dikarenakan terjadinya reaksi kimia secara langsung antara CO₂ dengan larutan NaOH. Reaksi dianggap merupakan reaksi satu arah dan berorde 2. Pada proses ini, kondisi pada fase gas serupa dengan absorpsi fisik. Tetapi pada fase cair,

selain terdapat lapisan tipis cairan juga terdapat zona reaksi. Reaksi kimia yang terjadi adalah inersible, dimana CO₂ pada fase gas akan diabsorpsi oleh larutan NaOH pada fase cair. Pada saat gas mendekati interfase cair, gas CO₂ akan larut dan langsung bereaksi dengan larutan NaOH¹⁰.

IV. Kesimpulan

Produksi biogas tertinggi pada perbandingan campuran 50 : 50, karena dapat dilihat dari volume gas yang dihasilkan 1,67 L. Dimana dengan penambahan campuran (inokulum) akan menaikkan produksi gas metana dan rasio C/N nya. Kandungan CO₂ yang tinggi dalam pembentukan biogas, sangat mempengaruhi gas metana yang dihasilkan. Tingginya kadar CO₂, maka akan memperkecil kadar metana.

V. Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada para analis dan teknisi laboratorium Bioteknologi FMIPA Universitas Andalas dan analis Laboratorium Kimia Kopertis Wilayah X.

Referensi

1. Asyraf, M. A, **2000**. Production Of Biogas From Poultry Manure. Universiti Malaysia Pahang, Malaysia
2. Haryati, T.,**2006**. Biogas Sebagai Sumber Energi Alternatif 160-169.
3. Patil, J.,**2011**. Molayan Lourdu, Biomethanation of Water Hyacinth, Poultry Litter, Cow Manure and Primary Sludge: A Comparative Analysis.
4. Mada, M. I.**2012**. Analisis Penyerapan Gas Karbondioksida (CO₂) Dengan Larutan NaOH Terhadap Kualitas Biogas Kotoran Sapi, Teknik Mesin ; Fakultas Teknik Universitas Mataram.
5. Sulaeman,**2005**. Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air dan Pupuk. Balai Penelitian Tanah.
6. Fantozzi, F.,**2009**. Biogas Production From Different Substrates in an Experimental Continuously Stirred Tank Reactor Anaerobic Digester. *University of Perugia, Biomass Research Centre (CRB)*.
7. Ahn, S.,**2008**. Biogas production potential from switch grass-animal manure mixture using dry anaerobic digestion. *Rhode Island Convention Center Providence, Rhode Island*.
8. Hadidi, Y. M., **2007**. Organic fertilizer and biogas production from poultry wastes. *College of Agriculture and Veterinary Medicine, Qassim University, Buraydah, P.O.Box 1482, Saudi Arabia* , vol 5 (1), 228-233.
9. Akanni, A.K.,**2012**. Relative Effectiveness of Biogas Production using Poultry Wastes and Cow Dung. *Department of Agricultural and Biosystems Engineering, University of Ilorin, P.M.B. 1515, Ilorin, Kwara State, Nigeria*.
10. Sinkora, M., **2011**. Monitoring of Dry Anaerobic Fermentation in Experimental Facility With use of Biofilm Reactor. *ACTA University Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*.

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA TRITERPENOID DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN SURIAN (*Toona sureni* (Blume) Merr)

Beni Antira, Hazli Nurdin, dan Adlis Santoni

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: hazlinurdin@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation of triterpenoid and antioxidant test of leaves extracts of *Toona sureni* (Blume) Merr have been carried out. The triterpenoid isolated is a white solid which melting at 153.2 °C – 154.4 °C. The compound gives single spot with various eluents. The UV-Vis spectrum showed maximum absorption at 202.40 nm. The IR spectrum showed the presence of (-OH), C-O alcohols, C=O carbonyl, CH stretching, CH bending, C-O ether, and have specific absorption of triterpenoid group geminal dimethyl. The treatment with Liebermann-Burchard gives red color indicated that the compound is triterpenoid. The antioxidant test showed the inhibition percent are 92.86% (methanol extract), 79.18% (ethyl acetate extract), and 22.45% (hexane extract).

Keywords: *Toona sureni* (Blume) Merr, triterpenoid, antioxidant.

I. Pendahuluan

Tanaman surian (*Toona sureni* (Blume) Merr) secara tradisional biasa digunakan masyarakat untuk berbagai keperluan. Kayunya bernilai tinggi dan sering digunakan untuk membuat lemari, mebel, interior ruangan, panel dekoratif, kerajinan tangan, alat musik, kotak cerutu, finis, dan petikemas. Beberapa bagian pohon, terutama kulit batangnya sering digunakan untuk ramuan obat diare, disentri, demam, dan pembengkakan limpa, astringen dan tonikum. Kulit batang dan buahnya mengandung minyak atsiri. Daun surian dilaporkan dapat mengusir serangga dan mematikan kepinding (*Cimexlectularius*), sebangsa kutu yang hidup di celah-celah lantai papan. Di Sumatera Barat daun surian digunakan juga sebagai penyedap rendang belut.¹⁻⁴ Penelitian terhadap *Toona sureni* (Blume) Merr juga menyebutkan daun tanaman ini mengandung senyawa tetranotriterpenoid, yaitu surenon, surenin, surenolakton, karotenoid yang terdiri dari β -karotena,

zeasantin, laktukasantin, dan triterpenoid yang mempunyai aktivitas anti-plasmodial, serta adanya kandungan senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid dalam minyak atsiri surian.⁵⁻⁹

Berdasarkan penelusuran literatur dapat disimpulkan bahwa daun surian dan daun tanaman dari spesies lain dari genus yang sama dalam family *Meliaceae* mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat bioaktif, termasuk diantaranya senyawa karotenoid, steroid, fenolik, dan minyak atsiri tetapi tidak membahayakan kesehatan karena dimanfaatkan juga sebagai bahan penyedap makanan. Fakta ini memperlihatkan kemungkinan daun surian sebagai sumber antioksidan alami yang aman bagi kesehatan manusia.

Sehubungan dengan adanya beberapa fakta di atas maka dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun surian serta pengujian bioaktivitas terhadap ekstrak daun surian sebagai antioksidan.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan, dan instrumentasi

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator*, Spektroskopi ultraviolet UV-Vis Secoman S 1000 PC, spektroskopi inframerah FTIR Perkin Elmer 1600 series, lampu UV $\lambda = 254$ dan 356 nm, plat KLT (silica gel 60 F 254), kolom kromatografi, dan berbagai peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Tumbuhan Surian (*Toona sureni* (Blume) Merr) diperoleh dari Nagari Koto Laweh Kabupaten Tanah Datar. Bagian tumbuhan yang diambil adalah daun dimana daun ini digunakan sebanyak 1 kg kering untuk isolasi metabolit sekunder.

Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain Heksan (C_6H_{14}), etil asetat ($C_4H_8O_2$), dan metanol yang digunakan sebagai pelarut saat meserasi dan eluen pada kromatografi kolom. Absorben yang digunakan pada kromatografi kolom adalah silika gel 60 Art, Pereaksi Meyer dipakai untuk identifikasi alkaloid, pereaksi Lieberman-Burchard untuk identifikasi terpenoid dan steroid, Sianidin test untuk identifikasi flavonoid, dan $FeCl_3$ 5% untuk identifikasi fenolik. DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) dan Vitamin C digunakan pada pengujian aktifitas antioksidan.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Ekstraksi

Sebanyak 1 kg bubuk daun tumbuhan *Toona sureni* (Blume) Merr dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dengan menggunakan heksan selama 2-4 hari sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring dan dilakukan berulang kali hingga perendaman tidak berwarna lagi. Hasil dari maserasi kemudian digabungkan dan diuapkan pelarutnya dengan

menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak kental heksan. Ampas yang didapat dari maserasi heksan tadi kemudian di maserasi lagi menggunakan etil asetat selama 2-4 hari. Setelah itu disaring dan dilakukan berulang kali hingga perendaman tidak berwarna lagi. Hasil dari maserasi kemudian digabungkan dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak kental etil asetat. Ampas yang didapat dari maserasi menggunakan etil asetat kemudian dimaserasi lagi menggunakan metanol dengan metoda yang sama dengan sebelumnya.

2.2.2 Pemurnian

Fraksi yang dilakukan proses selanjutnya adalah fraksi etil asetat. Ekstrak pekat fraksi etil asetat ini akan dipisahkan senyawanya menggunakan KLT dan kromatografi kolom. KLT digunakan untuk menentukan pelarut yang tepat beserta perbandingannya untuk dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Dengan menggunakan KLT ini dapat terlihat sistem pemisahan nanti apakah menggunakan sistem SGP atau isokratik.

Kolom silika gel dibuat dengan mensuspensikan silika gel dengan pelarut heksan yang bertujuan untuk menghomogenkan dan menghilangkan kemungkinan adanya gelembung udara yang akan mengganggu proses pemisahan. Kemudian silika yang telah disuspensi ini dimasukkan ke dalam kolom yang bagan dasarnya telah diberi kapas sebagai penyaring, yang sebelumnya telah dicuci dengan heksan.

Sampel yang akan diuji dipreabsorpsi terlebih dahulu, yaitu dengan mencampurkan ekstrak pekat dengan

silika menggunakan perbandingan 1 : 1. Preabsorsi ini dilakukan dengan mencampurkan ekstrak pekat dengan silika gel dan dicampurkan hingga homogen kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang telah disiapkan. Selanjutnya dilakukan elusi berdasarkan perbandingan eluen yang diperoleh dari KLT. Fraksi-fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan vial, kemudian dianalisa pola pemisahan nodanya dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola noda dan Rf yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih kecil. Fraksi yang pola nodanya lebih sederhana kemudian dimurnikan dengan rekolom sehingga didapatkan noda tunggal dengan menggunakan berbagai perbandingan pelarut.

2.2.3 Karakterisasi

Padatan yang didapatkan kemudian dilakukan karakterisasi jenisnya. Karakterisasi pertama yang digunakan adalah penentuan titik leleh. Titik leleh kristal yang terbaca kemudian dicatat. Karakterisasi selanjutnya menggunakan UV-Vis spektrometer dan IR. Spektrum yang didapatkan kemudian diolah sehingga dapat diindikasikan jenis senyawa yang telah diisolasi.

2.2.4 Metode pengujian aktivitas antioksidan

Pembuatan larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dengan cara ditimbang sebanyak 1,97 mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dan dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur sampai 100 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 μ M. Penentuan absorban dari larutan DPPH dilakukan dengan memipet sebanyak 3,8 mL larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 50 μ M dan ditambahkan dengan 0,2 mL metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan larutan diukur

dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dan digunakan sebagai absorban kontrol.

Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan, dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL, maka didapatkan konsentrasi 1 mg/mL. Kemudian untuk penentuan aktivitas antioksidan dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil 50 μ M. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm, absorban digunakan sebagai absorban sampel. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal bebas melalui perhitungan persentase inhibisi serapan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis senyawa hasil isolasi

Senyawa murni yang didapatkan diperoleh dari hasil rekromatografi kolom yaitu pada fraksi G4 dan G5 dimana hasil KLT pada Fraksi G4 dan G5 memperlihatkan 1 noda tunggal yang berwarna coklat kemerahan dengan menggunakan penampak noda H₂SO₄ 2 N yang diletakkan di atas pemanas. Dengan melihat noda tunggal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa telah murni.

Untuk memastikan apakah senyawa yang didapatkan telah murni atau belum maka dilakukan uji fitokimia (Libermann-Buchard), spektroskopi UV-Vis, dan spektroskopi IR.

Dari hasil pengujian titik leleh didapatkan titik leleh dari senyawa ini adalah sebesar

153,2 °C - 154,4 °C. Rentang titik leleh senyawa yang didapatkan adalah 1,2 °C ini mengindikasikan bahwa senyawa telah murni karena senyawa dapat dikatakan murni apabila titik lelehnya mempunyai rentang ± 2 °C.

Uji fitokimia dengan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan warna merah kecoklatan apabila diteteskan pada senyawa di plat tetes dan menunjukkan senyawa ini golongan terpenoid.¹⁰

Spektrum UV-Vis yang dihasilkan oleh senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 202,40 nm menunjukkan adanya ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi yang terdapat pada senyawa hasil pemurnian.¹¹

Spektrum IR senyawa hasil isolasi memberikan informasi beberapa pita serapan penting, yaitu adanya pita serapan -OH pada angka gelombang 3389,28 cm^{-1} dan diperjelas dengan adanya vibrasi rentangan C-O alkohol pada angka gelombang 1044,26 cm^{-1} . Serapan C-O karbonil ditunjukkan pada angka gelombang 1742,37 cm^{-1} . Adanya CH stretching pada angka gelombang 2922,59 cm^{-1} . Adanya CH bending ditunjukkan pada angka gelombang 1461,78 cm^{-1} . Adanya C-O eter ditunjukkan pada angka gelombang 1158,04 cm^{-1} .¹²

Geminal dimetil yang merupakan serapan khas senyawa golongan triterpenoid ditunjukkan 1378,85 cm^{-1} (~1390 cm^{-1} dan ~1370 cm^{-1}).¹²

Berdasarkan informasi yang diperoleh dari spektrum IR, dapat diindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid.

3.2. Pengujian aktivitas antioksidan

Uji antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dimana pengujian antioksidan dilakukan pada

ekstrak metanol, heksan, dan etil asetat. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm.

Tabel 1. Hasil uji aktifitas antioksidan ekstrak heksan, EtOAc, dan metanol dengan metode penangkapan radikal DPPH

No.	Larutan	Inhibisi (%)
1	Ekstrak metanol	92,86
2	Ekstrak etil asetat	79,18
3	Ekstrak heksan	22,45
4	Vitamin C	93,88

Dari data pada tabel di atas dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, etil asetat, dan heksan, berturut-turut mempunyai persen inhibisi sebesar 92,86 %, 79,18 %, 22,45 %. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun surian (*Toona sureni* (Blume) Merr) mempunyai respon yang besar terhadap penghambatan radikal bebas.

IV. Kesimpulan

Beberapa kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah senyawa hasil isolasi merupakan triterpenoid yang mempunyai titik leleh 153,2-154,4 °C, mempunyai ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi, dengan gugus fungsi OH, C-O alkohol, C-O karbonil, C-H stretching, C-H bending, C-O eter, dan geminal dimetil. Data hasil uji antioksidan menggunakan DPPH menjelaskan bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan ekstrak heksan.

V. Ucapan terima kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada analis laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Andalas yang telah menyediakan semua fasilitas selama berlangsungnya penelitian ini.

Referensi

1. Heyne, K. **1987**, Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Jakarta: *Yayasan Sarana Wana Jaya*.
2. Orwa, **2009**, Bioaktifity of Toona sureni. New York: *Son Inc*.
3. Djama'an, D. F., **2002**, Toona sureni (Blume) Merr: *Informasi Singkat Benih*. Bogor: *Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Pembenihan*.
4. Nurdin, **1978**, Essential Oil In West Sumatera. *Paper Presented on Seminar and Workshop on Essential Oils, Held in Bangkok*.
5. Kraus, **1979**, Surenone and Surenonin, Two novel Tetranoterpenoids from Toona Sureni (Blume) Merr. *Tetrahedron Letters*.
6. Kraus, **1982**, Surenolactone, a novel Tetranoterpenoid A/B-dilactone from Toona sureni (Blume) Merr (Meliaceae), *Liebigs Annalen*.
7. Nurdin, H., **2000**, Proceeding International Sympisium on the Role of Chemysry in Industry and Environment, *Andalas University*.
8. Cuong, **2007**, Triterpenes from Toona Sureni Moora (Meliaceae), *Chemistry*.
9. Chozin, **1995**, Isolation Monoterpenoid and Seskuiterpenoid of Toona surenim, New York: *Mc Graw Hill*.
10. Harborne, J. B., **1984**, Metode fitokimia, penentuan cara modern menganalisis tumbuhan. Padmawinata, *Institut Teknologi Bandung*.
11. Silverstein, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C., **1981**, Spectrometric Identification of Organic Compounds, *John Wiley and Sons*.
12. Sastrohamidjojo, H., **1991**, Dasar-dasar Spektroskopi, *Universitas Gajah Mada*.

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUAH SIKADUDUK (*Melastoma malabathricum* L.) SERTA APLIKASI SEBAGAI PEWARNA ALAMI

Fania Sari Arja, Djaswir Darwis, dan Adlis Santoni

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

e-mail : djaswirdarwis@yahoo.com

Jurusan Kimia, FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The sikaduduk fruit (*Melastoma malabathricum* L) was indentified and found to containing anthocyanin which can be used as natural dye for beverages. This anthocyanin was extracted by using maceration method with methanol by the addition of acid (pH 1-2). Extract was characterized by UV-Vis spectrophotometer in the wavelength range of 240-600 nm. It was shown that the anthocyanin result of pelargonidin derivate with λ_{\max} 510 nm. The stabilization of the compound was tested at different pH and temperature. The anthocyanin was found to be sable at pH 1-3 and changed at pH 5-9 as for the temperature was between 30°C untill. Antioxidant test for such species was examined at concentration vary of 0.2 %; 0.15 %; 0.1 %; and 0,05 % and it was shown that at 0.2 % it reached inhibition ability. The total anthocyanin resulted from the extraction by acidified methanol was 290.89 mg/L with hydrochloric acid and 284.21 mg/L with citric acid.

Kata Kunci : *Melastoma malabathricum* L., anthocyanin, pH, temperature, antioxidant.

I. Pendahuluan

Penggunaan bahan tambahan pangan khususnya pewarna makanan banyak mendapat sorotan karena produsen pangan olahan terutama skala industri rumah tangga banyak menyalahgunakan pewarna yang sebenarnya bukan untuk pangan. Alasan utama penyalahgunaan tersebut adalah karena pewarna *food grade* harganya relatif mahal sehingga biaya produksi juga akan menjadi lebih mahal.

Metabolisme sekunder banyak memberikan efek fisiologis dan efek farmakologis yang lebih dikenal dengan senyawa kimia aktif.¹ Salah satunya adalah golongan senyawa antosianin yang merupakan turunan dari golongan flavonoid.

Salah satu tanaman yang mengandung senyawa ini adalah buah sikaduduk (*Melastoma malabathricum* L.) yang pada uji pendahuluan memberikan hasil positif terhadap senyawa flavonoid. Pigmen ini berperan terhadap timbulnya warna merah hingga biru pada beberapa bunga, buah dan

daun.² Umumnya, semua bagian tanaman sikaduduk memiliki khasiat yang dapat menyembuhkan atau mengobati penyakit tertentu.^{3 dan 4}

Antosianidin adalah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Antosianidin yang paling umum dipakai sampai saat ini adalah sianidin yang berwarna merah lembayung. Perbedaan warna alami pigmen ini dipengaruhi oleh hidroksilasi dan metilasi. Hidroksilasi meningkatkan warna biru sedangkan metilasi meningkatkan warna merah.^{5,6}

Antosianin stabil dan memberikan warna cerah pada pH asam dan perlahan-lahan akan kehilangan warna seiring dengan meningkatnya pH, menjadi tak bewarna pada pH berkisar 4 - 5.⁷ Kestabilan warna senyawa antosianin dipengaruhi oleh pH atau tingkat keasaman, dan akan lebih stabil apabila dalam suasana asam atau pH yang rendah.⁸

Dalam pH asam antosianin berwarna merah orange sedangkan dalam pH basa antosianin berwarna biru-ungu atau kadang-kadang kuning.⁹ Berikut perubahan struktur antosianin (pelargonidin 3-glukosida) dalam larutan tergantung pH larutan.¹⁰

Robert Byamuka pada tahun 2009, telah mengisolasi senyawa sianidin-3-O-(6''-O- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid) sebanyak 92% dan delphinidin 3-O-(6''-O- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid) sebanyak 4 % dari tangkai daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

II. Metodologi Penelitian

2.1 Bahan kimia, peralatan, dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah buah sikaduduk merekah segar, methanol (CH₃OH) teknis yang didistilasi, asam sitrat (C₆H₈O₇), asam klorida (HCl), buffer pH 1 - buffer pH 9, natrium hidroksida (NaOH), klorofom (CHCl₃), asam klorida pekat (HCl)_p, logam Magnesium (Mg), besi (III) klorida (FeCl₃), anhidrida asetat (CH₃CO)₂O, asam sulfat pekat (H₂SO₄)_p, dan pereaksi meyer.

Alat yang digunakan adalah alat maserator, seperangkat alat distilasi, rotary evaporator Heidolph WB 2000, spektrofotometer UV-VIS Thermo Scientific series, lampu UV 254 nm dan 365 nm, plat KLT serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

2.2 Prosedur penelitian

Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel diperoleh dari daerah Kuranji, Padang, Sumatera Barat. Bagian yang akan diteliti adalah buah sikaduduk segar yang merekah lalu ditimbang.

Ekstraksi Antosianin

Sebanyak 25 gram buah sikaduduk merekah segar dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dengan menggunakan metanol yang di asamkan dengan HCl dan dengan asam sitrat. Kedua jenis pelarut tersebut dalam kondisi asam pH 1. Proses maserasi dilakukan secara berulang hingga tidak ada noda dengan pengecekan dengan KLT.

Analisa Antosianin

Menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 - 600 nm. Perlakuan terhadap ekstrak adalah variasi pH 1 - pH 9 dan variasi suhu 30°C - 100°C. Penentuan kadar total antosianin dihitung dengan menggunakan metode differensial. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak dilakukan dengan metode DPPH.¹² Aplikasi antosianin dilakukan terhadap minuman yang memiliki pH 5, 6, dan 9.

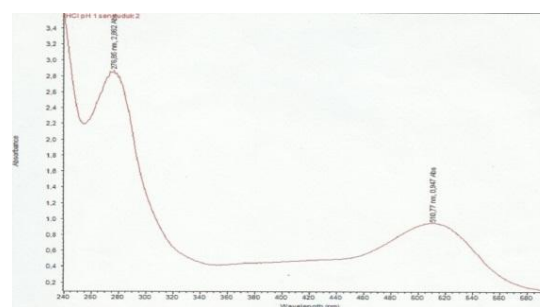
III. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Antosianin

Ekstraksi buah sikaduduk yang dilakukan dengan menggunakan metoda maserasi yaitu perendaman pada suhu ruang. Maserasi dilakukan pada botol hitam dan ditutup rapat, karena antosianin bisa teroksidasi dengan pengaruh suhu dan cahaya. Maserasi dilakukan sampai tiga kali agar didapatkan hasil yang optimal. Ekstrak yang diperoleh setelah dipekatkan sebanyak 84,23 mL untuk ekstrak metanol-HCl dan 80,76 mL untuk ekstrak metanol-asam sitrat.

Analisa dengan spektrofotometer UV-Vis

Berdasarkan hasil pengukuran spektrofotometer UV-Vis didapatkan hasil spektrum dengan dua puncak yaitu pada daerah UV yaitu 277 nm dan pada daerah Vis yaitu 510 nm.

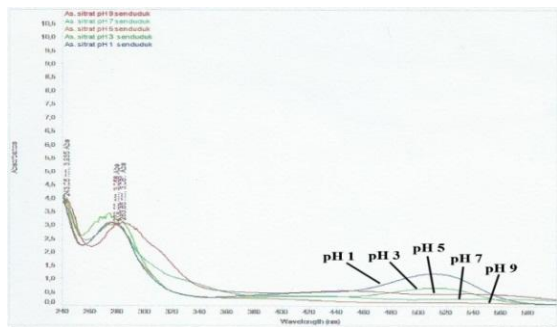


Gambar 1. Spektrum UV-Vis ekstrak buah sikaduduk

Puncak ini merupakan ciri khas senyawa antosianin yaitu pelargonidin. Spectrum ini mirip dengan hasil spektrum pada jurnal yang ditulis oleh Qin C dkk pada tahun 2010.¹³

Analisa terhadap perlakuan pH

Antosianin lebih stabil pada kondisi asam yaitu pada kisaran pH 1-3. Spektrum UV-Vis ekstrak antosianin buah sikaduduk ditunjukkan pada gambar dibawah ini.

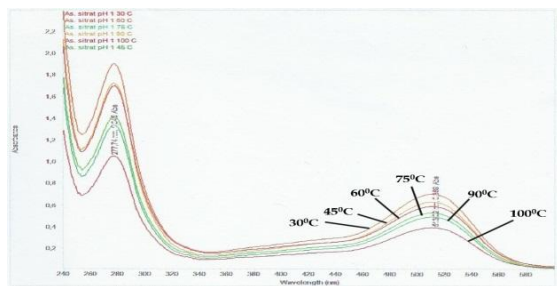


Gambar 2. Perubahan bentuk spektrum UV-Vis variasi pH

Pada pH 1 dengan serapan maksimumnya 510 nm yang merupakan pelargonidin. Sedangkan pada pH 5-9 tidak memiliki serapan maksimum khas antosianin, karena senyawa antosianin mengalami degradasi.

Analisa terhadap perlakuan temperature.

Variasi suhu dilakukan pada 30°C (sebagai kontrol), 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C.



Gambar 3. Perubahan spectrum UV-Vis terhadap variasi suhu

Variasi suhu dilakukan untuk aplikasi sebagai pewarna terhadap pengolahan makanan dan minuman, yang pada umumnya menggunakan suhu dengan titik didih air yaitu 100°C.

Hasil spectrum dari suhu 30°C – 100°C terjadi penurunan absorbansi terhadap kenaikan suhu, hal ini menandakan terjadinya degradasi antosianin dalam buah sikaduduk terhadap suhu pemanasan yang semakin meningkat.

Uji antioksidan.

Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

Tabel 1. Perbandingan % inhibisi dari ekstrak MeOH-asam sitrat dan MeOH-HCl.

Sampel	% Inhibisi			
	0,2	0,15	0,1	0,05
MeOH-HCl	80,55	79,34	72,28	52,66
MeOH-as. Sitrat	91,05	87,95	84,68	55,24

Dari tabel % inhibisi yang besar pada ekstrak buah senduduk metanol-asam sitrat yaitu 91,05 % pada konsentrasi 0,2 %, begitu pula pada konsentrasi berikutnya juga memberikan respon yang baik. Pada ekstrak metanol-HCl juga memberikan daya hambat terhadap radikal bebas yang cukup baik. Jadi senyawa antosianin pada ekstrak bersifat penangkap radikal bebas yang memiliki banyak gugus penangkap dan lebih aktif terhadap radikal bebas.

Kadar total antosianin.

Kadar total antosianin dihitung dengan metode pH-diferensial didapatkan kadar total antosianin dari ekstrak metanol-HCl sebesar 290,89 mg/L dan ekstrak metanol-asam sitrat 284,21 mg/L. Dapat dilihat kadar total antosianin pada ekstrak metanol-HCl lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak metanol-asam sitrat.

Hal ini berarti senyawa antosianin yang terkandung dalam buah sikaduduk memiliki kepolaran yang hampir sama dengan metanol sehingga lebih banyak terekstrak dengan menggunakan pelarut methanol. Pengaruh jenis asam juga mempengaruhi kestabilan antosianin, dimana antosianin lebih stabil

dalam kondisi asam. Penggunaan asam kuat (HCl) terhidrolisis sempurna sehingga senyawa antosianin akan terekstrak lebih banyak dibandingkan dengan asam sitrat yang merupakan asam lemah.

Aplikasi minuman.

Dilakukan pada minuman yang ber pH 5, 6, dan 9. Pada minuman pH 5 warna putih menjadi pink, minuman pH 6 dari bening menjadi pink, dan pada minuman pH 9 dari bening menjadi ungu.

IV. Kesimpulan

Antosianin pada buah senduduk diprediksi adalah pelargonidin, yang menyerap pada λ_{vismaks} 510 nm. Kadar total antosianin ekstrak metanol-HCl sebesar 290,89 mg/L dan pada ekstrak metanol-asam sitrat sebesar 284,21 mg/L. Kestabilan antosianin pada buah senduduk berkisar antara pH 1-3 yaitu berwarna merah dan pada pH 5-9 berwarna ungu muda-coklat dan stabil terhadap perubahan suhu 30°C - 100°C. Penambahan senyawa antosianin ke dalam minuman pH 5 dan pH 6 memberikan warna pink, dan limun pH 9 memberikan warna ungu. Ekstrak buah senduduk memiliki antioksidan dengan % inhibisi maksimal pada konsentrasi 0,2 %.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis laboratorium Kimia Bahan Alam Universitas Andalas. Dan semua pihak terkait.

Referensi

1. Suryani, H., **1991**, Kimia dan Sumber Daya Alam. Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang. Hal 31.
2. Tensiska., Sukarminah., E., dan Natalia., D., Ekstraksi Pewarna Alami Dari Buah Arben (*Rubus Idaeus* (Linn.)) Dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan. UNPAD.

3. Kusdianti., Sheba., L., Nilawati, T.S., **2008**, *Tumbuhan Obat di Legok Jero Situ Lembang*. Bogor, Penggalang Taksonomi Tumbuhan Indonesia (PTTI)
4. Jofry, S. M., **2011**, *Melastoma malabathricum* (L.) Smith Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Properties: A Review. Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, University Teknologi MARA, Puncak Alam Campus, 42300 Bandar Puncak Alam, Selangor, Malaysia.
5. Winarno, F. G., **1993**, Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen, Penerbit Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
6. Kahkonen, Marja, P., and Heinonen, M., **2003**, Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Aglycons, *J. Agric. Food Chem*, 51, 628-633
7. Ramos, L.vA., Lupetti, K.vO., Carvalho, E. T., and Fatibello-Filho, O., **2000**, Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum nigrum* L. no ensino de química. *Eclética Química*, 25:110-120.
8. Belitz, H. D dan Grosch, W., **1999**, Food Chemistry, 2nd Edition. Germany, Springer.
9. Eskin, M., **1979**, Plant Pigment, Flavors and Texture. London, Academic Press.
10. Brouillard, R., **1988**, Flavonoids and flower colour. In Harborne, J. B., ed. *The Flavonoids: advances in research since 1980*. pp 525-538. Chapman and Hall, London.
11. Robert., B., Jane, N., and Kiremire, B., **2009**. Anthocyanin From Leaf Stalks Of Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz). *Makerere University*, Uganda.
12. Wiwin, S., **2010**, Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). Vol 15 : 64-70.
13. Qin C., Li, Y., Niu, W., Ding, Y., Zhang, R., and Shang X., **2010**, Analysis and Characterization of Anthocyanin in Mulberry Fruit, *Czech J. Food Sci.*, 28 : 117-126