

JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 2 Nomor 2

Mei, 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. SINTESIS FASA AURIVILLIUS LAPIS EMPAT $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ DENGAN METODE LELEHAN GARAM Sabri Ella Afni, Syukri Arief, Zulhadjri	1-4
2. DEGRADASI SENYAWA SIPERMETRIN DALAM PESTISIDA RIPCORD 5 Ec SECARA OZONOLISIS DENGAN MENGUNAKAN TiO_2 /ZEOLIT SEBAGAI KATALIS Wilda Rahmi, Zilfa, dan Yulizar Yusuf	5-9
3. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT BATANG SRIKAYA (<i>Annona squamosa</i> Linn) Yurna Welly, Bustanul Arifin, dan Afrizal	10-16
4. UJI BAKTERI <i>ESCHERICHIA COLI</i> YANG RESISTAN TERHADAP ANTIBIOTIK PADA IKAN KAPAS-KAPAS DI SUNGAI BATANG ARAU PADANG Rina Anggraini, Marniati Salim, dan Elida Mardiah	17-21
5. PRODUKSI SELULASE DARI <i>Aspergillus niger</i> DAN KEMAMPUANNYA MENGHIDROLISIS AMPAS TEBU Nova Aulina Rohana, Elida Mardiah, dan Afrizal	22-28
6. PEMANFAATAN ASAP CAIR TEMPURUNG KELAPA PADA PEMBUATAN IKAN KERING DAN PENENTUAN KADAR AIR, ABU SERTA PROTEINNYA Sanny Edinov, Yefrida, Indrawati, dan Refilda	29-35
7. ANALISIS WARNA, BAU, pH, Fe, Zn DAN N-ORGANIK PADA KOMPOS YANG DIBUAT DARI TANDAN KELAPA SAWIT DENGAN MENGGUNAKAN AKTIVATOR LUMPUR AKTIF PT. BUMI SARIMAS INDONESIA (Cocomas) Muhammad Refqi Zaki Yul Haq, Indrawati, dan Rahmiana Zein	36-43
8. EKSTRAKSI DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA ANTOSIANIN DARI DAUN MIANA (<i>Coleus scutellarioides</i> L (Benth.)) SERTA APLIKASI PADA MINUMAN Yuniar Hardiyanti, Djaswir Darwis, Adlis Santon	44-50

9. ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN BAMBU (*Dendrocalamus asper*) 51-55
Muha Miko Imarta Yanda, Hazli Nurdin, dan Adlis Santoni
10. FERMENTASI ANAEROBIK LIMBAH KULIT SINGKONG DAN KOTORAN KELINCI UNTUK PRODUKSI BIOGAS 56-60
Aelita, Abdi Dharma, dan Bustanul Arifin
11. FERMENTASI ANAEROB DARI SAMPAH PASAR UNTUK PEMBENTUKAN BIOGAS 61-66
Desy Rahmayanti, Abdi Dharma, dan Marniati Salim
12. PRODUKSI BIOGAS DARI KOMBINASI LIMBAH CAIR PABRIK KELAPA SAWIT DAN SAMPAH SAWI HIJAU DALAM SISTEM BATCH 67-72
Yuliana Sastika, Abdi Dharma, dan Elida Mardiah
13. STUDI ADSORPSI PENJATUHAN 2 DAN 4 ATOM BORON PADA PERMUKAAN GRAFENA MENGGUNAKAN METODE SEMIEMPIRIS AM1 73-80
Devi Armelya, Imelda, dan Emdeniz
14. ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI DNA BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIMIKROBA DARI FERMENTASI MARKISA KUNING (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) 81-91
Yuni Nurisva Maya Sari, Sumaryati Syukur, dan Jamsari
15. ISOLASI, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI DNA BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIMIKROBA DARI FERMENTASI KAKAO VARIETAS HIBRID (TRINITARIO) 92-102
Yulia Delfahedah, Sumaryati Syukur, dan Jamsari
15. PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger* DAN KEMAMPUANNYA MENGHIDROLISIS JERAMI PADI 103-108
Wezyah Adri, Elida Mardiah, dan Afrizal
16. PROFIL FITOKIMIA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TANAMAN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC) DAN JERUK BALI (*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr). 109-114
Unzila Rahmi, Yunazar Manjang, dan Adlis Santoni

17. **PENENTUAN KANDUNGAN KAPSAISIN PADA BERBAGAI BUAH CABAI (*Capsicum*) DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)** 115-119
Rahmi Yola, Zulfarman, dan Refilda

18. **PENGGUNAAN PASANGAN ELEKTRODA CuO/C DALAM SEL FOTOVOLTAIK CAIR DALAM PRODUKSI GAS HIDROGEN** 120-127
Diana Hayati, Admin Alif, dan Syukri

SINTESIS FASA AURIVILLIUS LAPIS EMPAT $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ DENGAN METODE LELEHAN GARAM

Sabri Ella Afni, Syukri Arief, Zulhadjri*

Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

*e-mail: zulhadjri@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Synthesis of four layers Aurivillius phase $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ ($x = 0$ and $0,5$) has been carried out by molten salts method using eutectic mixture $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ (1:1 molar ratio) as the flux. The products were characterized by X-ray diffraction powder (XRD) and their patterns showed the forming of four layers Aurivillius with typical peaks at 2θ around : $12,18^\circ$, $17,13^\circ$, $21,44^\circ$, $23,23^\circ$, $27,65^\circ$, $30,26^\circ$, $32,82^\circ$, $39,20^\circ$, $39,63^\circ$, $47,27^\circ$, $47,92^\circ$, $52,00^\circ$ and $57,22^\circ$. All of the products contained impurities predicted as the perovskite and three layers of Aurivillius phases. The four layers Aurivillius phases has ortorombik symmetry with the space group $A2_1am$. Increasing composition of concentration La^{3+} in the sample give increasing of perovskite phase of impurity. The morphology of the samples were characterized by Scanning electron Microscopy (SEM) and the sample with $x = 0$ was formed plates typical compounds of Aurivillius phase.

Keywords: four layers Aurivillius phase; molten-salt, Le Bail technique

I. Pendahuluan

Fasa Aurivillius merupakan suatu senyawa oksida logam yang terdiri atas struktur berlapis yang terbentuk dari $[\text{A}_{n-1}\text{B}_n\text{O}_{3n+1}]^{2-}$ yang disebut dengan lapisan perovskit dan lapisan $[\text{Bi}_2\text{O}_2]^{2+}$. Kation A merupakan ion-ion yang dapat bermuatan $+1$, $+2$ atau $+3$ dengan ukuran lebih besar dari kation B yang diantaranya adalah logam alkali, alkali tanah, unsur tanah jarang atau campurannya. Sedangkan kation B merupakan suatu unsur transisi dengan koordinasi oktahedral yang berukuran lebih kecil dari kation A , dan n adalah jumlah oktahedral pada lapisan perovskit^[1].

Oksida Aurivillius merupakan salah satu jenis oksida logam yang menarik untuk dipelajari secara luas karena banyak potensi aplikasi yang dimiliki, seperti sifat ferroelektrik. Fasa Aurivillius diketahui bersifat ferroelektrik setelah dipelajari oleh

Smolenski^[2] dan Subbarao^[3]. Sifat ferroelektrik dalam fasa Aurivillius disebabkan oleh strukturnya yang terdistorsi. Sifat ferroelektrik adalah kemampuan untuk menahan sisa polarisasi elektrik setelah tegangan listrik yang diberikan dihilangkan. Sebagian besar oksida Aurivillius merupakan material ferroelektrik dengan suhu Curie tinggi dan polarisasi spontan yang besar. Kegunaan dari senyawa yang bersifat ferroelektrik adalah untuk bahan kapasitor, bahan untuk menyimpan data pada memori komputer non-volatile, serta bahan-bahan elektro optik untuk penyimpanan data dan display^[4-5].

Dewasa ini usaha yang banyak dilakukan dalam mensintesis senyawa Aurivillius adalah yang bersifat magnetoelektrik yaitu adanya sifat ferroelektrik dan magnetik sekaligus dalam satu fasa. Zulhadjri, dkk^[6] telah mensintesis senyawa magnetoelektrik

$Pb_{1-x}Bi_{4+x}Ti_{4-x}Mn_xO_{15}$ dengan kation magnetiknya adalah Mn^{3+} . Konsentrasi kation Mn^{3+} yang dapat membentuk fasa tunggal Aurivillius hanya hingga 0,6 mol. Sementara itu W. J. U, dkk^[7] berhasil memasukkan konsentrasi ion Mn^{3+} sebanyak 1 mol untuk senyawa $Bi_2Sr_2Nb_2MnO_{12}$. Jika diperhatikan dari senyawa ini, maka kation Bi^{3+} hanya ada dua atom dan diperkirakan berada pada lapisan $[Bi_2O_2]^{2+}$.

Untuk itu dicoba membuat senyawa Aurivillius lapis 4 $SrBi_{4-x}La_xTi_4O_{15}$ dengan $x = 0$ dan 0,5 dengan mengurangi jumlah kation Bi^{3+} dengan mensubstitusinya menggunakan kation La^{3+} .

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi
Sintesis oksida Aurivillius lapis empat dilakukan dengan metode lelehan garam. Bahan-bahan yang digunakan antara lain : Bi_2O_3 Aldrich (99,9%), La_2O_3 Aldrich (99,9%), $SrCO_3$ Aldrich (99,9%), TiO_2 Aldrich (99,9%), Na_2SO_4 (Merck), K_2SO_4 (Merck) dan aquadest. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tungku pemanas (furnace), timbangan analitik, krusibel, alumina, mortal dan pestel. oven, dan alat-alat gelas. Alat karakterisasi yang digunakan adalah XRD Philips PW 170 dan SEM JEOL JSM-6360LA. Karakterisasi struktur menggunakan difraksi sinar-X (XRD) dilakukan dengan alat difraktometer tipe PW170. Analisis SEM dilakukan dengan alat JEOL JSM-6360LA.

2.2. Prosedur penelitian

Sintesis Senyawa Aurivillius

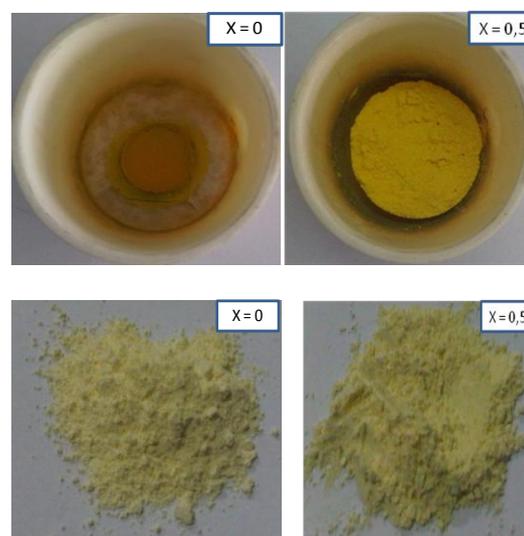
Semua bahan awal (precursor) ditimbang dengan perbandingan stoikiometrinya ($x = 0$ dan 0,5) kemudian digerus dengan agate mortal. Selanjutnya campuran bahan pereaksi yang sudah digerus tadi dicampur dengan campuran garam Na_2SO_4/K_2SO_4 dengan jumlah mol senyawa target dengan mol campuran garam adalah 1:7. Campuran bahan pereaksi dengan campuran garam ditempatkan dalam krus alumina lalu

dipanaskan pada suhu $750^\circ C$ selama 10 jam, suhu $850^\circ C$ dan $950^\circ C$ selama 5 jam. Setelah dingin digerus kembali kemudian campuran dicuci beberapa kali dengan aquadest panas. Produk yang diperoleh dipanaskan dalam oven pada suhu $110^\circ C$ selama 24 jam. Produk yang didapat dikarakterisasi dengan menggunakan XRD dan SEM.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis hasil karakterisasi atau hasil pengukuran

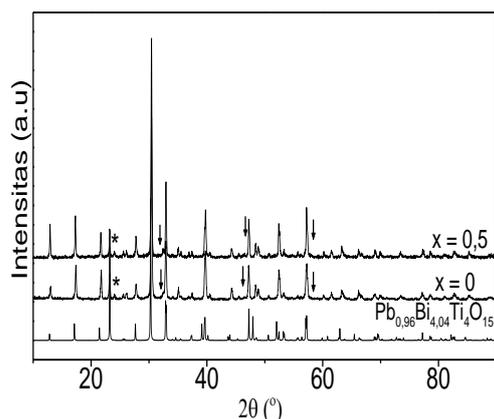
Produk hasil sintesis $SrBi_{4-x}La_xTi_4O_{15}$ dianalisis dengan metode lelehan garam. Pada produk, setelah pemanasan pada suhu $750^\circ C$ sampel dan campuran garam masih berbentuk bubuk begitu juga untuk pemanasan pada suhu $850^\circ C$. Pemanasan terakhir dilakukan pada suhu $950^\circ C$, sampel dan garam terlihat sudah mengeras dan menyatu seperti terlihat pada Gambar 1. Selanjutnya produk di cuci dengan aquadest panas dan di keringkan.



Gambar 1. Produk $SrBi_{4-x}La_xTi_4O_{15}$ ($x = 0$ dan 0,5) setelah pemanasan pada suhu $950^\circ C$ dan setelah air pencucian hilang.

Hasil difraksi sinar-X senyawa $SrBi_{4-x}La_xTi_4O_{15}$ untuk sampel $x = 0$ dan 0,5 diperlihatkan pada Gambar 2. Berdasarkan

pola difraksi sinar-X pada Gambar 2 didapatkan bahwa fasa Aurivillius berlapis 4 sudah terbentuk. Terbentuknya fasa Aurivillius lapis 4 dapat ditentukan dengan membandingkan pola difraksi sinar-X, sampel dengan standar Aurivillius lapis 4, $\text{Pb}_{0,96}\text{Bi}_{4,04}\text{Ti}_4\text{O}_{15}$, yaitu ditandai dengan $2\theta = 12,18^\circ, 17,13^\circ, 21,44^\circ, 23,23^\circ, 27,65^\circ, 30,26^\circ, 32,82^\circ, 39,20^\circ, 39,63^\circ, 47,27^\circ, 47,92^\circ, 52,00^\circ, 57,22^\circ$. Namun ada beberapa puncak yang muncul dan ini tidak menunjukkan puncak senyawa Aurivillius lapis 4. Puncak ini diperkirakan merupakan fasa pengotor sebagai Aurivillius lapis 3, $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ yaitu pada $2\theta =$ sekitar $24,00^\circ$ dan fasa SrTiO_3 untuk $2\theta = 32,36^\circ, 32,51^\circ$ dan $32,76^\circ$. Dari data XRD juga terlihat bahwa dengan penambahan komposisi La^{3+} maka semakin banyak pengotor SrTiO_3 yang terbentuk.

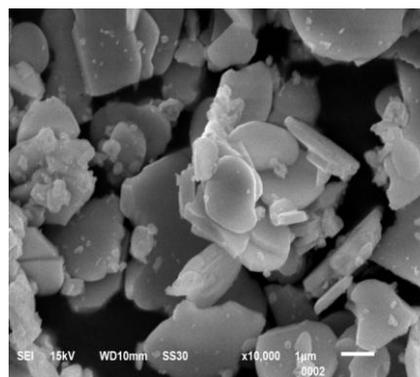


Gambar 2. Pola difraksi sinar-X serbuk senyawa $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ dengan $x = 0, 0,5$ dan $\text{Pb}_{0,96}\text{Bi}_{4,04}\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ (standar) diambil dari laporan Nalini, dkk^[8].
 \downarrow = fasa SrTiO_3
 $*$ = fasa $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$

Data difraksi sinar-X diRefinement dengan teknik *Le Bail*. Menggunakan campuran 3 fasa yaitu fasa Aurivillius berlapis 4 dengan struktur ortorombik yang bergrup ruang $A2_1am$, fasa Aurivillius berlapis 3 $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ yang bergrup ruang $B2cb$ dan fasa SrTiO_3 yang bergrup ruang $I4/mcm$. Data standar Aurivillius lapis 4 yang digunakan adalah senyawa $\text{Pb}_{0,96}\text{Bi}_{1,04}\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ yang dilaporkan oleh Nalini, dkk^[8] dengan $a = 5,4535(2) \text{ \AA}$, $b = 5,4312(2) \text{ \AA}$ dan $c = 41,415(13) \text{ \AA}$ yang

bersimetri ortorombik dan grup ruang $A2_1am$. Sedangkan $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ digunakan data dengan $a = 5,5437 \text{ \AA}$, $b = 5,395 \text{ \AA}$ dan $c = 32,95 \text{ \AA}$ yang berstruktur ortorombik dan grup ruang $B2cb$ yang dilaporkan oleh Shrinagar dkk^[9]. Untuk SrTiO_3 digunakan data dengan $a = 5,5068 \text{ \AA}$, $b = 5,5068 \text{ \AA}$ dan $c = 7,843 \text{ \AA}$ yang berstruktur tetragonal dan grup ruang $I4/mcm$ yang dilaporkan oleh Jauch, W. dan Palmer, A 1999^[10].

Analisis SEM terhadap senyawa $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ untuk $x = 0$ diperlihatkan pada Gambar 3. Morfologinya terlihat seperti lempengan - lempengan dan ini merupakan ciri khas dari morfologi fasa Aurivillius. Pada lempengan masih terdapat partikel-partikel kecil yang dianggap sebagai fasa pengotor seperti yang dijelaskan pada data difraksi sinar-X sebelumnya.



Gambar 3. Morfologi sampel $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ dengan perbesaran 10.000 kali ($x = 0$)

IV. Kesimpulan

Sintesis fasa Aurivillius lapis 4, $\text{SrBi}_{4-x}\text{La}_x\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ telah dilakukan dengan menggunakan tehnik lelehan garam. Dari hasil *refinement* memperlihatkan bahwa seluruh produk mengandung fasa pengotor berupa Aurivillius lapis tiga, $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ dan perovskit, fasa SrTiO_3 . Hasil difraksi sinar-X menunjukkan bahwa semakin banyak komposisi La^{3+} maka semakin banyak pengotor SrTiO_3 yang terbentuk. Sesuai dengan hasil *refinement* struktur maka fasa Aurivillius lapis 4 yang terbentuk adalah

bersimetri ortorombik dengan grup ruang $A2_1am$. Analisis dengan SEM menunjukkan bahwa morfologi sampel berbentuk lempengan.

V. Ucapan terima kasih

Tulisan ini tidak dapat terwujud tanpa bantuan dan dukungan dari banyak pihak, untuk ini penulis sangat berterima kasih kepada staf laboratorium yang membantu dalam memperlancar penulis menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

1. Ismunandar, **2006**, Padatan Oksida Logam: Struktur, Sintesis dan Sifat-sifatnya, *Institut Teknologi Bandung*, hal. 94-97
2. Smolenski, G. A., Isopov, V. A., and Agronous, A. I., **1961**, Layered Oktahedral Ferroelektrics, *Fiz. Tverd. Tela (leningrad)*, 3,3 899-901.
3. Subbarao E. C., **1960**, Ferroelectricity in $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ and its Solid Solution
4. Insyani. D. L., and R. Afifah., **2011**. Synthesis and Characterization of The two-layer Aurivillius $\text{BaBi}_2\text{Nb}_2\text{O}_9$ dan $\text{BaBi}_2\text{Ta}_2\text{O}_9$ using Solid-State Method
5. Zulhadjri., Prijamboedi B., Nugroho A. A., Mufti N and Ismunandar, **2011**, Five Layers Aurivillius Phases $\text{Pb}_{2-x}\text{Bi}_{4+x}\text{Ti}_{15-x}\text{Mn}_x\text{O}_{18}$: Synthesis, Structure, Relaxor Ferroelectric and Magnetic Properties. *J. Sci.*, Vol. 43 A, No. 2, 2011, 139-150
6. Zulhadjri., Prijamboedi B., Nugroho A. A., and Ismunandar., **2009**, Synthesis and Structure Analysis of Aurivillius Phases $\text{Pb}_{1-x}\text{Bi}_{4+x}\text{Ti}_{4-x}\text{Mn}_x\text{O}_{15}$. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 56, 1108-1111
7. Yu. W. J., Kim, Y. I., Ha, D. H., Lee, J. H., Park, Y. K., Seong, S., and Nur, N. H., **1999**, A new manganese oxide with the Aurivillius structure : $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{Nb}_2\text{MnO}_{12-8}$ solid state
8. Nalini, G and Guru Row, T. N., **2002**. Structure determination at room temperature and phase transition studies above T_c in $\text{ABi}_4\text{Ti}_4\text{O}_{15}$ (A = Sr, Ba or Pb)
9. Shrinagar, A. Garg, A. Prasad, R and Auluck., **2008**, Structure and phase transitions in Aurivillius phase ferroelectrics.
10. Jauch, W and Palmer, A., **1999**, Anomalous zero-point motion in SrTiO_3 : Results from gamma-ray diffraction.

DEGRADASI SENYAWA SIPERMETRIN DALAM PESTISIDA RIPCORD 5 Ec SECARA OZONOLISIS DENGAN MENGGUNAKAN TiO₂/ZEOLIT SEBAGAI KATALIS

Wilda Rahmi, Zilfa, 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

A study aimed to degrade cypermethrin in Ripcord 5 EC pesticide has been carried out by ozonolysis. Cypermethrin is an active compound in the group of pyrethroids and toxic to invertebrate and human as well. Cypermethrin in Ripcord 5 EC pesticide is commonly used to control insects. In order to prevent cypermethrin contamination in water, a degradation process via ozonolysis combined with TiO₂/Zeolite is necessary. TiO₂/Zeolite was synthesized by mixing TiO₂ and zeolite. Ozonolysis takes part by means of the ozone (O₃) that breaks the bond between C = C of organic compounds and converts them into the C = O containing molecules. The results were measured by UV-Vis spectrophotometer in the range of 240-340 nm. The degradation of 10 mg/L cypermethrin in 10 mL by ozonolysis without addition of catalysts was reached 47.33% after 60 minutes, while the degradation with the addition of 20 mg TiO₂/Zeolite was found to be higher (73.43 %).

Keywords: ozonolysis, degradation, cypermethrin, TiO₂/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. Di Indonesia sipermetrin

digunakan untuk pengendalian serangga atau hama pemukiman seperti pembasmian nyamuk, lalat dan kecoa.¹

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 limbah tersebut secara ozonolisis.²

Ozonolisis merupakan suatu metoda degradasi senyawa organik dengan menggunakan ozon (O₃), 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.³

Untuk pendegradasian senyawa organik dalam pestisida diperlukan katalis untuk mempercepat jalannya proses degradasi. Pada saat ini banyak berkembang penggunaan TiO_2 /Zeolit untuk mendegradasi senyawa organik dalam limbah cair.

TiO_2 /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.⁴ Beberapa keuntungan diharapkan dari pengembanan TiO_2 pada zeolit alam antara lain potensi zeolit alam yang melimpah di Indonesia serta stabilitas yang tinggi pada kondisi asam. 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) serta sebagai fotokatalis.⁵

Berdasarkan hal diatas, maka dilakukan degradasi sipermetrin dalam pestisida pestisida Ripcord 5 EC secara ozonolisis dengan menggunakan TiO_2 /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 TiO_2 /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 TiO_2 /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 TiO_2 /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

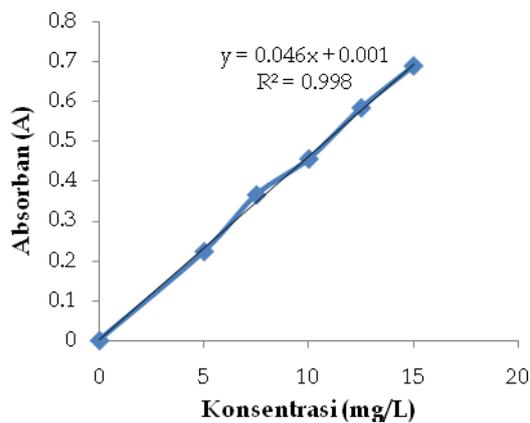
Tabel 1. Perbandingan Variasi Pelarut

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

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.

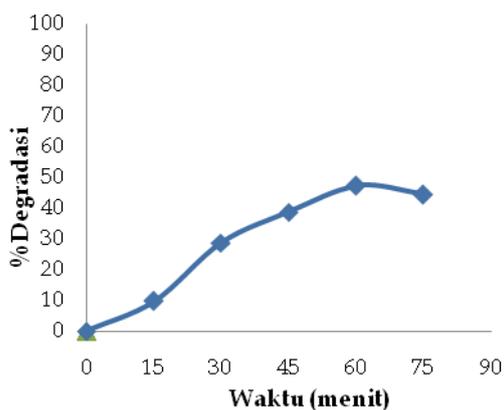
3.2. Kurva Kalibrasi Serapan Beberapa Variasi Konsentrasi Sipermetrin

Gambar 1 memperlihatkan bahwa absorbansi pada senyawa sipermetrin berbanding lurus dengan variasi konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi akan semakin besar. Dari kurva kalibrasi memperlihatkan kelinearan absorbansi sehingga didapatkan persamaan regresinya yaitu $y = 0.046x + 0.001$ dengan harga koefisien korelasi $R^2 = 0.998$. Konsentrasi yang cocok digunakan pada senyawa sipermetrin adalah 10 mg/L dengan Absorbansi 0.455 nm.



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar sipermetrin

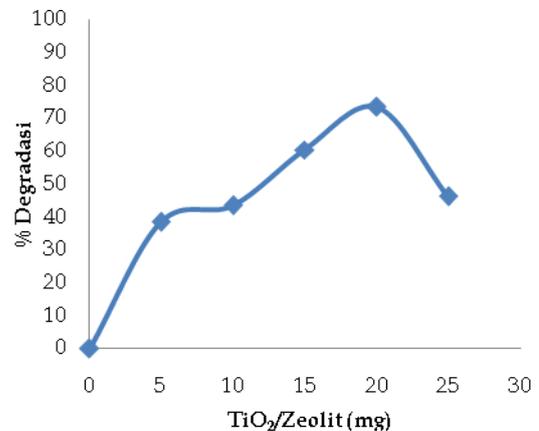
1.4 Pengaruh Waktu Ozonolisis Tanpa Katalis



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.

3.4 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.^{6 dan 7}

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 TiO₂ 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 Laboratorium Analisis Terapan Jurusan Kimia Universitas Andalas.

Referensi

1. Tyler, C., **2000**, *Environmental Toxicology and Chemistry*, pp. 19, 801-809
2. Xu, Xian-Wen, S. Hui-Xian, W. Da-hui, **2005**, *Ozonation With Ultrasonic Enhancement of P-Nitrophenol Wastewater. J. Zhejiang Univ Science B.5* : 319-323.
3. Tietze, L. F., and Bratz, M., **1998**, *Ozonolysis Mechanism in Organic, Org Synth Coll*, 9 : 34.
4. Yeslia, U, Karna, W., Triyono, dan Eko, S., **2006**. Preparasi dan Karakterisasi TiO₂-Zeolit serta pengujiannya pada Degradasi Limbah Industri Tekstil secara Fotokatalitik. *Indo. J. Chem.* 6 (3). 231 - 237.
5. Zilfa., **2010**, Penggunaan TiO₂-anatase, Zeolit dan Zeolit Terpilar TiO₂-anatase sebagai Pendegradasian Permetrin Secara Sonofotolisis. *Disertasi*, Universitas Andalas
6. Fatimah I., dan Wijaya, K., **2005**, Sintesis TiO₂/Zeolit sebagai Fotokatalis pada Pengolahan Limbah Cair Industri Tapioka secara Adsorpsi-Fotodegradasi, *UGM, Yogyakarta*, pp.10(4):257-267
7. Zilfa, Suryani, H, Safni dan Jamarun, N., **2011**, Penggunaan Zeolit sebagai Pendegradasi Senyawa Sipermetrin dengan Metode Fotolisis, *J. Natur Indonesia*, pp. 14(1):14-18

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT BATANG SRIKAYA (*Annona squamosa* Linn)

Yurna Welly, Bustanul Arifin, Afrizal

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: ba_arifin@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Antioxidant activities and isolation of secondary metabolite compound have been studied from *Annona squamosa* L bark extracts. The test of antioxidant activity used DPPH radical scavenging method, and secondary metabolite compound isolated by using maseration and flash column chromatography methods. Methanol, hexane, and ethyl acetate extracts had antioxidant activities 44.7, 19.0 and 13.4 % of inhibition respectively. The isolated compound was a triterpenoid that was white solid and melting at 126.9 - 128.5 °C. The compound had some functional groups, there were C=O (carbonyl), (OH) hydroxyl, C-O (ether), (C-H) aliphatic and (CH₃) methyl. The antioxidant activity of this compound was 6.5 % of inhibition.

Keywords: e-journal, antioksidan, senyawa metabolit sekunder, srikaya

I. Pendahuluan

Indonesia adalah salah satu negara agraris yang kaya akan berbagai jenis tanaman. Hal ini didukung oleh keadaan tanah yang subur. Banyak diantara tanaman tersebut dimanfaatkan dalam pengobatan, yang biasa dikenal dengan sebutan obat tradisional. Mengingat semakin banyaknya kebutuhan terhadap obat-obatan, maka penelitian kearah tersebut perlu ditingkatkan untuk memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai komponen aktif yang dikandung oleh tanaman. Komponen aktif ini diperoleh dari senyawa metabolit sekunder yang tidak dimiliki oleh semua tanaman.

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai tanaman obat-obatan adalah srikaya (*Annona squamosa* L). Hampir dari semua jenis metabolit sekunder terkandung didalam srikaya, seperti flavonoid, fenolik, kumarin, terpenoid, steroid dan saponin. Khasiat dari srikaya memberikan efek anti tumor/kanker yang sangat kuat. Selain itu,

buah dan kulit batang srikaya juga berfungsi sebagai anti bakteri, anti jamur (fungi), diare, disentri akut, luka berdarah, gangguan pencernaan (*atonik dispepsia*), serta efektif melawan berbagai jenis parasit, mematikan kutu kepala dan serangga. ⁽¹⁾

Penelitian mengenai srikaya telah banyak dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Pisutthanan *et al.* (2004) mengenai uji sitotoksik bagian-bagian srikaya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* menunjukkan bahwa fraksi metanol 90% ekstrak metanol daun dan biji srikaya menyebabkan kematian terhadap larva udang dengan nilai LC50 berturut-turut sebesar 0,63 µg/mL dan 0,10 µg/mL.⁽²⁾ Pardhasaradhi *et al.* (2005) meneliti efek sitotoksik ekstrak biji srikaya terhadap sel tumor manusia. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak organik dan ekstrak air biji buah srikaya menginduksi apoptosis sel tumor MCF-7 dan K-562. ⁽³⁾

Pada tahun 2011 Tylor Johns telah mengisolasi senyawa golongan senyawa alkaloid dari tanaman srikaya yang dapat digunakan sebagai obat antimalaria yang ditunjukkan pada Gambar 1.⁽⁴⁾

Gambar 1. Struktur molekul senyawa golongan alkaloid dari srikaya

Annonaceae adalah famili dari srikaya, salah satu tanaman endemik Indonesia yang termasuk family Annonaceae adalah *Saccopetalum horsfieldii* Benn. Pada tahun 2004 Fatimah, N berhasil mengisolasi senyawa golongan flavonoid yaitu kuersetin-3,7-dimetileter. Berdasarkan uji aktivitas yang telah dilakukan, senyawa ini memiliki aktifitas terhadap biolarvasida dan anti kanker yang ditunjukkan pada Gambar 2.⁽⁵⁾

Gambar 2. Struktur molekul senyawa golongan flavonoid dari *Saccopetalum horsfieldii* Benn.

Ketkaew Buttrawong, *dkk* (2009) berhasil mengisolasi dua senyawa triterpenoid dari *Polythia debilis* (Annonaceae). Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antimalaria dan memiliki aktivitas yang sangat tinggi terhadap antikanker.⁽⁶⁾ Struktur dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Struktur molekul senyawa golongan triterpenoid dari *Polythia debilis*.

Berdasarkan laporan hasil penelitian sebelumnya serta kandungan senyawa aktif yang telah dilaporkan, maka penelitian ini difokuskan untuk mengisolasi salah satu metabolit sekunder tersebut serta melakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap masing-masing ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari kulit batang srikaya.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut heksan, etil asetat (EtOAc), dan metanol. Pemisahan dan pemurnian komponen kimia dengan kromatografi kolom *flash*. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan pengujian titik leleh, spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi IR. Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak menggunakan metode penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*) 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

II. Metode Penelitian

2.1 Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan adalah pelarut organik seperti metanol (CH₃OH), etil asetat (C₄H₈O₂) dan heksan (C₆H₁₄) teknis yang didistilasi. Untuk uji fitokimia digunakan kloroform (CHCl₃), pereaksi meyer, akuades, besi (III) klorida (FeCl₃), asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, anhidrida asetat (C₄H₆O₃), ammonia (NH₄OH), pereaksi Sianidin (asam klorida pekat (HCl), bubuk Magnesium (Mg)), asam sulfat pekat (H₂SO_{4(p)}), dan natrium hidroksida (NaOH) 1%. Absorben yang dipakai pada proses kolom kromatografi adalah silika gel 60 (0,063-0,200 mm) keluaran *Merck*. Untuk uji antioksidan digunakan DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazin).

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator* (Heidolph WB 2000), oven (Fisher Scientific *Isotemp® oven, Model 630 F*), lampu UV ($\lambda = 254$ nm dan 366 nm), spektrofotometer UV-Vis (Secoman S1000 PC), FTIR (Fourier Transform Infra Red) (*Perkin Elmer 1600 series*), kromatografi kolom *flash*, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), *Fischer Melting Point Apparatus*.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Persiapan Sampel

Srikaya diambil di Kelurahan Pisang, Kecamatan Pauh, Padang. Bagian yang diteliti adalah kulit batangnya sebanyak 2,5 kg dikeringanginkan pada udara terbuka selama 3 minggu dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Sampel kering tersebut kemudian digiling halus sampai berbentuk serbuk, dan selanjutnya ditimbang.

2.2.2 Pembuatan larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 2,0 mg dan dilarutkan dengan metanol didalam labu ukur 100 mL sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 51 μ M.

2.2.3 Maserasi kulit batang srikaya

Sebanyak 700 g kulit batang srikaya yang telah dikeringanginkan dimaserasi dengan heksan (5x700 mL) dengan penggantian pelarut setiap tiga hari sekali. Hasil maserasi disaring dan ditampung, sedangkan ampasnya dikeringanginkan diudara terbuka untuk menghilangkan sisa pelarut heksan. Kemudian ampasnya dimaserasi lagi dengan EtOAc dan selanjutnya dengan metanol dengan perlakuan yang sama dengan maserasi menggunakan pelarut heksan. Masing-masing maserat heksan, EtOAc dan metanol tersebut kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan masing-masing ekstrak pekatnya. Selanjutnya masing-masing ekstrak pekat tersebut diuji aktivitas antioksidan dan kandungan metabolit sekundernya.

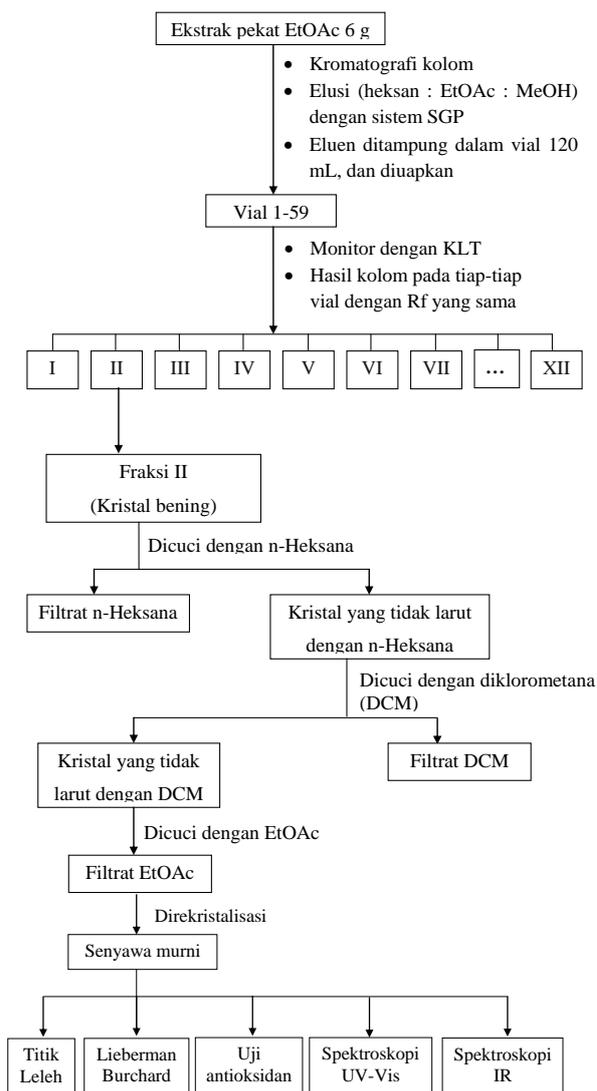
2.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Masing-masing ekstrak pekat heksan, EtOAc dan metanol ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL. Sebanyak 0,2 mL masing-masing larutan ekstrak tersebut ditambahkan dengan 3,8 mL larutan DPPH 51 μ M, kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansi masing-masing larutan sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 515$ nm. Sebagai pembanding digunakan asam askorbat (vitamin C) dengan perlakuan yang sama terhadap sampel. Sehingga dapat dihitung persen inhibisi masing-masing sampel dengan cara:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

2.2.5 Kromatografi Kolom dan Karakterisasi

Kromatografi kolom dilakukan terhadap ekstrak EtOAc sebab ekstrak ini mempunyai aktivitas antioksidan yang relatif tinggi dari ekstrak yang lain. Selain itu, ekstrak EtOAc adalah ekstrak semipolar yang hampir semua jenis senyawa metabolit sekunder dari yang kurang polar sampai yang lebih polar terkandung didalamnya. Skema kerja kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 5. Skema kerja isolasi senyawa metabolit sekunder dari kulit batang srikaya

Terhadap senyawa hasil isolasi ini juga diuji aktivitas antioksidannya dengan cara ditimbang padatnya sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL, kemudian diukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Maserasi Kulit Batang Srikaya

Hasil maserasi terhadap kulit batang srikaya menggunakan pelarut heksan, EtOAc dan metanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah ekstrak heksan, EtOAc dan metanol hasil maserasi.

No	Ekstrak	%
1.	heksan	8,22
2.	Etil Asetat	1,98
3.	Metanol	0,91

Dari hasil maserasi diperoleh ekstrak pekat heksana, EtOAc, dan metanol berturut-turut adalah 8,22; 1,98 dan 0,91 %. Ini menunjukkan bahwa kulit batang srikaya lebih banyak mengandung senyawa-senyawa nonpolar dibandingkan dengan senyawa yang lebih polar.

Masing-masing ekstrak diuji kandungan metabolit sekundernya. Pada ekstrak metanol mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik. Ekstrak EtOAc mengandung golongan senyawa triterpenoid, steroid, flavonoid, dan fenolik, sedangkan ekstrak heksan mengandung golongan senyawa triterpenoid dan steroid.

3.2 Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak heksan, EtOAc dan metanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji antioksidan masing-masing ekstrak pekat kulit batang srikaya.

No.	Sampel	Konsentrasi (mg/L)	% Inhibisi
1.	Ekstrak heksan	1000	13,44
2.	Ekstrak EtOAc	1000	19,02
3.	Ekstrak metanol	1000	44,67
5.	Vitamin C	31,25	49,90

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa ekstrak metanol memiliki persen inhibisi yang paling besar dibandingkan ekstrak heksan dan EtOAc. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak metanol mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Ini disebabkan oleh metanol dapat melarutkan lebih banyak senyawa-senyawa baik yang kurang polar maupun yang lebih polar.

3.2. Kromatografi Kolom dan Karakterisasi

Ekstrak pekat EtOAc yang telah diisolasi diuji pola nodanya sehingga didapatkan 12 fraksi yang lebih sederhana. Dari hasil KLT menunjukkan bahwa fraksi II memiliki pola noda yang sederhana dari fraksi-fraksi yang lain. Untuk itu dilanjutkan pengerjaan pada fraksi tersebut untuk direkristalisasi. Hasil penggabungan fraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Fraksi dari hasil kromatografi kolom berdasarkan pola noda yang sama.

Fraksi	Pola noda hasil KLT	Rf
I	1 noda	0,93
II	2 noda	0,82; 0,91
III	4 noda	0,71; 0,8 0,87; 0,91
IV	3 noda, tailing	0,27; 0,6; 0,71
V	3 noda, tailing	0,45; 0,54; 0,77
VI	3 noda	0,39; 0,5; 0,66
VII	3 noda, tailing	0,45; 0,66; 0,81
VIII	3 noda, tailing	0,32; 0,45; 0,68
IX	2 noda tailing	-
X	1 noda, 1 tidak naik	0,27
XI	3 noda berdempet	-
XII	2 noda berdempet	-

Fraksi II yang telah diuapkan pelarutnya dicuci dengan heksan, DCM dan EtOAc. Dari hasil pencucian tersebut didapatkan satu buah noda yang tailing pada fraksi etil asetat, dan memiliki padatan putih yang lebih banyak dibandingkan dengan filtrat yang lain setelah pelarutnya diuapkan. Selanjutnya dilakukan rekristalisasi pada fraksi EtOAc tersebut dengan menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu heksan dan etil asetat. Sehingga diperoleh satu noda tunggal pada perbandingan eluen heksan : etil asetat (8:2) dengan Rf 0,72 pada plat KLT. Aktivitas antioksidan senyawa hasil isolasi ini memiliki nilai inhibisi 6,46%. Ini menandakan bahwa senyawa hasil isolasi ekstrak EtOAc kulit batang srikaya memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak heksan, EtOAc dan metanol.

Senyawa hasil isolasi diukur titik lelehnya untuk mengetahui bahwa senyawa tersebut telah murni dengan rentang titik leleh yang kurang dari 2 °C. Berdasarkan pengukuran

titik lelehnya senyawa hasil isolasi ini memiliki rentang titik leleh 126,9-128,5 °C. Terhadap senyawa hasil isolasi ini dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui golongan metabolit sekunder dari senyawa tersebut. Berdasarkan pengujian menggunakan pereaksi *Liebermann-Burchard* menunjukkan adanya perubahan warna menjadi warna merah kecoklatan setelah ditambahkan anhidrida asetat dan asam sulfat pekat. Ini menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan golongan triterpenoid.

3.2.1 Spektroskopi UV-Vis

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-1700 Series. Spektrum UV yang dihasilkan oleh senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 206,20 nm yang dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol.

Umumnya senyawa yang mempunyai transisi - * mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 150 nm, senyawa dengan transisi - * (tidak berkonjugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 190 nm, sedangkan senyawa yang dengan transisi n - * mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 300 nm

yang menandakan adanya ikatan rangkap berkonjugasi.⁽⁷⁾

Berdasarkan penjelasan sebelumnya dan pita serapan maksimum yang diperoleh dari spektrum UV, yaitu pada λ_{\max} 206,20 nm menunjukkan bahwa senyawa mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan tidak adanya ikatan rangkap berkonjugasi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi.

3.2.2 Spektroskopi IR

Berdasarkan hasil pengukuran pada spektrum IR terdapat beberapa puncak dengan serapan penting yang terlihat pada Gambar 7.

Gambar 7. Spektrum IR senyawa hasil isolasi.

Spektrum IR senyawa hasil isolasi memberikan informasi beberapa pita serapan penting, yaitu pada bilangan gelombang 3437,49 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur gugus hidroksil (OH) dan diperjelas dengan bilangan gelombang 1184,08 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi ulur C-O alkohol, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1265,07 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O eter (1300-1000 cm^{-1}). Untuk pita serapan pada bilangan gelombang 2928,38 cm^{-1} yang didukung dengan bilangan gelombang 1458,89 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan dan tekukan -CH. Daerah bilangan gelombang 1634 cm^{-1} mengindikasikan adanya serapan C=O.⁽⁷⁾

Spektrum IR senyawa hasil isolasi ini memberikan serapan pada bilangan

gelombang 1362,79 cm^{-1} yang menunjukkan adanya puncak geminal dimetil (1360-1385 cm^{-1}). Serapan oleh *gem-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 tunggal.⁽⁸⁾

Berdasarkan informasi yang diperoleh dari uji *Liebermann-Burchard* dan didukung oleh hasil spektroskopi IR yang menunjukkan adanya gugus geminal dimetil, dapat diindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid.

IV. Kesimpulan

Senyawa hasil isolasi ekstrak etil asetat adalah senyawa triterpenoid yang mempunyai titik leleh 126,9-128,5. Senyawa ini berupa padatan berwarna putih yang tidak mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi dan memiliki gugus C=O, OH (alkohol), C-O (eter), -CH alifatik dan geminal dimetil.

Ekstrak metanol memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan ekstrak heksan, dengan nilai inhibisi berturut-turut 44,67; 19,02 dan 13,44 %. Untuk senyawa hasil isolasi memiliki nilai inhibisi sebesar 6,46 % yang menandakan bahwa senyawa ini mempunyai aktivitas antioksidan yang relatif lebih rendah.

V. Ucapan terima kasih

Pada kesempatan ini penulis ingin berterima kasih kepada analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBA), Ibu Mitralena yang telah membantu dalam penyediaan alat-alat labor. Seluruh teman-teman yang ada di labor KOBA yang telah membantu dalam penelitian ini.

Referensi

1. Oktia, D., **2007**, Isolasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn), *Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Sumatra Utara*.
2. Pisutthanan, S., Plianbangchang, P., Pisutthanan, N., Ruanruay, S., and Muanrit, O., **2004**, Brine Shrimp Lethality Activity of Thai Medicinal Plants in the Family Meliaceae, *Naresuan University Journal*, 12 (2), p. 13-18.
3. Pardhasaradhi, B. V. V., Madhurima, R., Ali, Mubarak, Kumari, Leela, and Khar, A., **2005**, Differential Cytotoxic Effects of *Annona squamosa* Seed Extracts on Human Tumour Cell Lines: Role of reactive oxygen species and glutathione, *J. Biosci*, 30 (2), p. 237-244.
4. Johns, T., **2011**, Antimalarial Alkaloid Isolated from *Annona squamosa*, *Inforesights Publishing UK*, vol 3, p. 49-53.
5. Fatimah, N., **2004**, Isolasi dan Uji Biolarvasida Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang *Saccopetalum horfieldii* Benn, *Skripsi, Jurusan Kimia FMIPA UNAIR*.
6. Buttrawong, K., **2009**, Isolation of Bioactive Metabolites from Root Extracts of *Polyalthia Debilis*, *Srinakharinwirot University, Thailand*, vol 38.
7. Silverstein, R. M., Bassler G. C., Morrill T.C., **1981**, *Spectrofotometric Identification of Organic Compounds 4th Ed.*, John Willey And Sons, p. 136-140, 306-311.
8. Fessenden, R. J., Fessenden, J. S., **1982**, *Kimia Organik Edisi 3 Jilid 1*, PT. Gelora Aksara Pratama, hal. 319

UJI BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* YANG RESISTAN TERHADAP ANTIBIOTIK PADA IKAN KAPAS-KAPAS DI SUNGAI BATANG ARAU PADANG

Rina Anggraini, Marniati Salim, dan Elida Mardiah

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

Email : bundosalim@gmail.com

Jurusan Kimia, FMIPA Unand, Kampus Limau Manih, 25163

Abstract

A study in antibiotic resistance *Escherichia coli* from kapas-kapas fish in Batang Arau River has been achieved. This work is to determine the presence of pathogenic bacteria (such as *E.coli*) by Most Probable Number (MPN) method and bacteria resistant against antibiotics as well. From the qualitative test there were positive coliform and fecal coliform bacteria. It was obtained that there are 333 combination which $\geq 2400/100$ mL, and 332 about 1100/100 mL, respectively based on MPN method according to Mc Crady. The result of isolation showed that there are five cultures *E.coli* found by the biochemical test. It was shown that methyl red and lactose posses positive *E. coli*, while citrate was negative. The antibiotics halozone showed Meropenem which indicates highest sensitivity to *E.coli*. All of antibiotics pattern were resistance and intermediate (30%) and susceptible (40%). The amplification result indicates *Escherichia coli* O157: H7 was not found by using *stx1* gene.

Key words : *Escherichia coli*, kapas-kapas fish, Antibiotic resistance, Electrophoresis.

1. Pendahuluan

Ikan merupakan sumber makanan yang kaya akan kandungan gizi Seperti kandungan protein, lemak, vitamin dan mineral. Ikan dapat digunakan sebagai bahan obat-obatan, pakan ternak dan lainnya dan mudah dicerna. Ikan adalah sumber pangan yang mudah rusak karena sangat cocok untuk pertumbuhan mikroba baik patogen maupun nonpatogen.^(1,2)



Gambar 1. Ikan kapas-kapas (*Geres filamentosus*)

Masyarakat pada umumnya banyak mendapatkan ikan di sungai dengan cara memancing. Ada beberapa faktor yang menyebabkan tercemarnya sungai akibat

aktivitas manusia, tetapi masyarakat masih menggunakan sungai sebagai sarana sumber kehidupan. Misalnya Pencemaran air yang dapat merusak lingkungan perairan sehingga kualitas air terganggu, Gangguan tersebut dapat berupa pencemaran lingkungan, pencemaran makanan dan minuman, serta penularan penyakit yang mengakibatkan infeksi. Salah satu pencemaran terjadi di Sungai Batang Arau yang terletak dikota Padang. sungai ini telah banyak dicemari oleh bermacam-macam limbah. Salah satunya limbah rumah sakit yang dapat membahayakan kesehatan masyarakat adalah mikroorganisme patogen seperti *E. coli*.⁽³⁾

Escherichia coli merupakan bakteri indikator kualitas air minum karena keberadaannya di dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme enterik patogen lainnya. *Escherichia coli* termasuk kelompok bakteri

berbentuk batang aerob fakultatif gram negatif dengan tebal 0,5 µm, panjang antara 1,0 - 3,0 µm, berbentuk seperti filamen yang panjang, tidak berbentuk spora, bersifat Gram negatif.⁽⁴⁾

Escherichia coli merupakan salah satu kelompok bakteri yang dihindari kehadirannya dalam manusia. Bakteri *E.coli* yang bersifat patogen yaitu Bakteri *Escherichia coli* O157:H7. Manusia yang terpapar oleh kuman *E.coli* O157:H7 disebabkan oleh kontak langsung dengan hewan infeksi atau akibat mengkonsumsi makanan seperti ikan, udang, daging, buah, sayur, air yang telah terkontaminasi serta susu yang belum dipasteurisasi. Kotoran manusia dan hewan merupakan sumber penularan *E.coli* O157:H7 terhadap manusia untuk dilakukam pendeteksian dengan gen *stx1* untuk bakteri yang bersifat patogen.^(5,6)

Bakteri *E.coli* O157: H7 dapat terjadi diakibatkan tercemarnya sungai yang dialiri oleh limbah rumah sakit, salah satunya pemakaian antibiotik tersebut merupakan limbah rumah sakit jika pembuangannya tidak dilakukan penanganan khusus. Dimana penggunaan antibiotik yang berlebih atau tidak terkendali menyebabkan efek samping yang berbahaya bagi manusia itu sendiri, yang menyebabkan bakteri-bakteri tertentu resisten terhadap antibiotik. *Escherichia coli* O157: H7 adalah strain *enterohemorrhagic* (penyebab diare dan *colitis*/pendarahan pada kolon) dari bakteri *Escherichia coli* EHEC) yang bersifat patogen pada manusia dapat menimbulkan *Haemorrhagic Colitis* yang ditandai dengan diare berdarah dan *Haemolytic Uraemic Syndrome* (HUS) yaitu infeksi pada saluran kencing.⁽⁷⁾

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat, Bahan

Magnetic stirrer, inkubator, autoclave, lemari pendingin, laminar air flow, pipet mikro, ependorf, elektroforesis, mikrowave, sentrifuse, gel documentation, pcr, dan alat-alat kimia lainnya seperti erlenmeyer, gelas piala, pipet takar, tabung durham dan lain-lain.

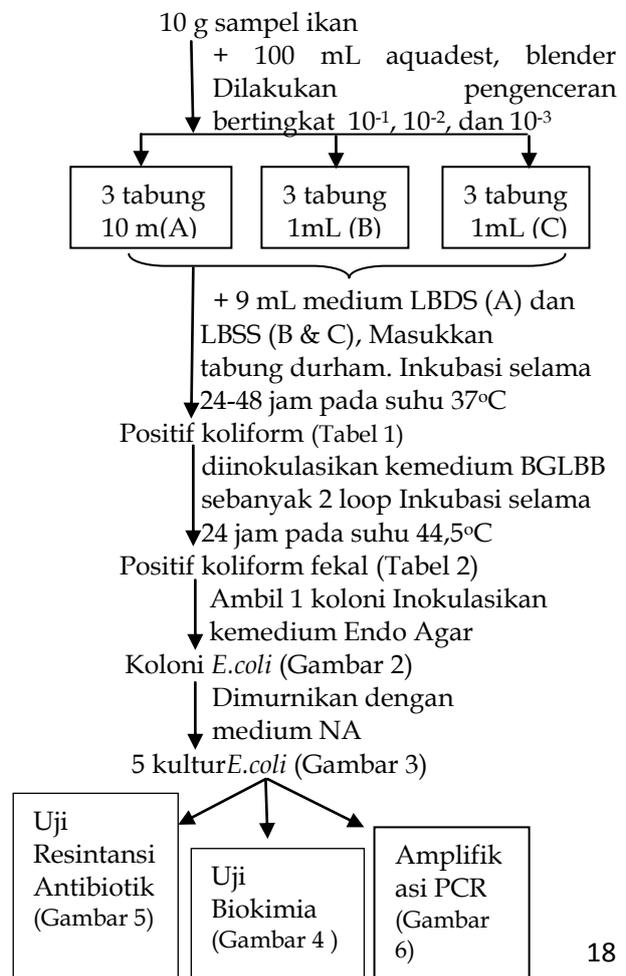
Lactose Broth (LB), Laktosa Monohidrat, Brilliant Green lactose Bile Broth (BGLBB), Endo Agar, Nutrient Agar (NA) , Muller Hinton Agar (MHA), yeast ekstrak, NaCl, Tripton, Tris Borat EDTA (TBE), Agarose 1%, Antibiotik Paper Disc (Ceftazidime, Meropenem, Amoxicillin dan Cefotaxime), Ethidium Bromide, Taq polymerase, Aquadest, fenol, kloroform (1:1), Tris-EDTA (TE), Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 10%, proteinase K, Na Asetat 3M, Isopropanol, Etanol, ddH₂O PCR, DNA Template (Genom DNA), 2.5 mM dNTP Mix Solution, Taq Polymerase, Primer.

2.2 Pengambilan sampel

Ikan diambil dari Sungai Batang Arau yang terletak dikota Padang Sumatera Barat didaerah Palinggam. Sampel diambil sekitar jam 16.00 sore kemudian diletakkan didalam tupperwarre kemudian disimpan dalam lemari pendingin selama 1 malam.

2.3 Prosedur Penelitian

Uji Kualitatif Koliform dengan metoda MPN



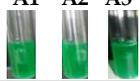
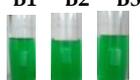
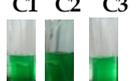
3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Kualitatif koliform dan koliform fekal
 Dari hasil uji dengan metoda MPN pada sampel ikan ditemukan mikroba yang mampu memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan positif bakteri koliform yang berarti ada mikroba yang dapat menghasilkan gas. Yang ditandai dengan adanya asam, gas pada tabung durham dan warnanya keruh dengan kombinasi jumlah tabung positif : 333 jumlah bakteri *coliform* adalah $\geq 2400/100$ mL. positif bakteri koliform fekal menunjukkan adanya kekeruhan dan adanya gas yang terdapat pada tabung durham dengan kombinasi jumlah tabung positif : 332 maka jumlah bakteri *coliform* adalah 1100 (sel)/100 mL menurut tabel Mc Crady.

Tabel 1. Uji Kualitatif Koliform

No	Tabung	Gas dan Kekeruhan	pH
1	A1 A2 A3 	+	A1 = 3,800 A2 = 3,915 A3 = 3,792
2	B1 B2 B3 	+	B1 = 4,184 B2 = 4,117 B3 = 4,048
3	C1 C2 C3 	+	C1 = 4,123 C2 = 4,147 C3 = 4,145

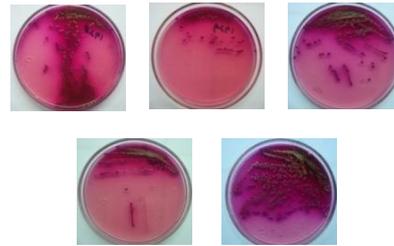
Tabel 2. Uji Kualitatif Koliform Fekal

No	Tabung	Gas dan Kekeruhan
1	A1 A2 A3 	A1 = + A2 = + A3 = +
2	B1 B2 B3 	B1 = + B2 = + B3 = +
3	C1 C2 C3 	C1 = + C2 = + C3 = -

3.2 Isolasi Escherichia coli

Hasil isolasi menunjukkan bakteri *Escherichia coli* yang berupa koloni berwarna kuning metalik. medium Endo Agar ini terdapat Natrium sulfid dan fuchsin yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri

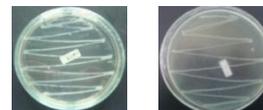
gram positif. Warna koloni merah disebabkan bakteri *E.coli* dan koliform memetabolisme laktosa menjadi aldehid dan asam sehingga aldehid bereaksi dengan fuchsin. Koloni kilap disebabkan *E.coli* bereaksi dengan fuchsin kristal sehingga fuchsin tersebut diserap.



Gambar 2. Hasil uji *E.coli* pada medium Endo Agar (A1, A2,A3,B1 dan B2)

3.3 Pemurnian Bakteri Escherichia coli

Tujuan pemurnian ini untuk mendapatkan koloni tunggal (koloni yang murni) semakin banyak dimurnikan maka semakin baik.



Gambar 3. Biakan murni *E. coli* pada medium NA (Nutrient Agar)

3.4 Uji Biokimia Bakteri Escherichia coli

Tabel 3. Uji Identifikasi biokimia ke 5 kultur bakteri

Kode Bakteri	Uji MM	Uji Laktosa	Uji sitrat
A1	+	+	-
A2	+	+	-
B1	+	+	-
B2	+	+	-
B3	+	+	-

Keterangan tabel : + = uji Positif *E.coli*
 - = uji negatif *E.coli*

Uji Metil Merah menunjukkan positif bakteri *Escherichia coli* jika berubah warna dari kuning menjadi merah menunjukkan adanya oksidasi glukosa menjadi asam. Jadi asam yang dihasilkan *E. coli* dapat menurunkan pH medium yang mengandung 0,5 % glukosa sehingga

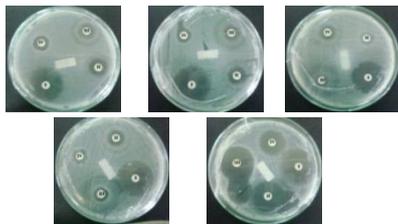
mencapai pH 5, yang menyebabkan indikator metil merah yang diteteskan ke dalam medium tersebut menjadi berwarna merah. Uji Laktosamenunjukkan fermentasi karbohidrat, dengan pembentukan asam yang akan terlihat dari perubahan warna medium menjadi kuning. Hasil positif *E.coli* ditunjukkan dengan perubahan medium menjadi kuning dan Uji Sitrat dimana sitrat merupakan satu-satunya sumber karbon di dalam medium tersebut. Dari hasil pengujian medium tetap berwarna hijau, hal ini menunjukkan negatif *E.coli*.



Gambar 4. Uji Identifikasi bakteri *E.coli* secara Biokimia (Uji MR, Laktosa dan Sitrat)

3.4 Uji kepekaan terhadap antibiotik

Uji resistensi antibiotik bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan *Disc Diffusion Method* dari Kirby Bauer, meropenem merupakan antibiotik yang mempunyai kepekaan yang sangat tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 5. Hasil Resistansi (A1, A2, B1, B2, B3) Bakteri *Escherichia coli* pada antibiotik Meropenem (I), Cefotaxime (II), Ceftazidime (III), Amoxicillin (IV)

Tabel 4. Hasil Halozone biakan antibiotik (mm)

No. Antibiotik	AML	CAZ	CTX	MEM
A1	14,25	12,5	14	29
A2	14,25	13,5	15,5	30
B1	13,5	7	13	30
B2	14,5	12,5	16	31,25
B3	20	29,5	31	34

Keterangan : AML = Amoxicillin; CAZ = Ceftazidime; CTX = Cefotaxime; dan MEM = Meropenem

Dari hasil yang didapatkan pada petri A1 Amoxicillin memiliki 4 kultur intermediet dan 1 kultur susceptible dan tidak terdapatnya kultur yang resistan, Ceftazidime memiliki 4 kultur resistan dan memiliki 1 kultur susceptible dan tidak terdapatnya kultur yang intermediet, Cefotaxime memiliki 2 kultur resistan dan memiliki 2 kultur intermediet dan memiliki 1 kultur susceptible, dan Meropenem dan tidak terdapatnya kultur yang resistan, dan tidak terdapatnya kultur yang intermediet, memiliki 5 kultur susceptible. (tabel 4)

Tabel 5. Total kultur berdasarkan jenis Antibiotik dan Standar Interpretive

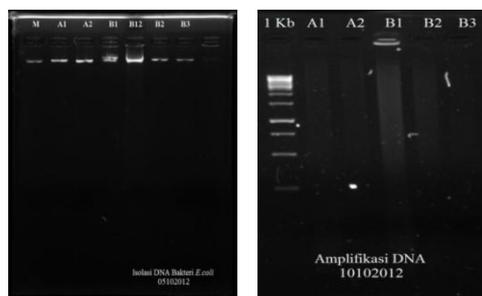
No	Nama Antibiotik	Resistan	Intermediet	Susceptible
1	(AML)	-	4	1
2	(CAZ)	4	-	1
3	(CTX)	2	2	1
4	(MEM)	-	-	5
	Total	6(30%)	6(30%)	8(40%)

Kepekaan tertinggi kuman gram negatif terhadap antibiotika meropenem terhadap bakteri *Escherichia coli*, tingkat resistensi tertinggi ditunjukkan antibiotik Ceftazidime dan Cefotaxime sedangkan Amoxicillin tergolong kategori intermediet yang menunjukkan bahwa masih ada kemungkinan efektif terhadap isolat yang diperiksa namun masih lemah dalam menghadapi isolat yang sensitif. (tabel 5)

3.5 Isolasi DNA terhadap bakteri *Escherichia coli* dan Amplifikasi isolat DNA

Didapatkan bahwa kelima kultur berhasil diisolasi dengan menunjukkan adanya pita-pita DNA yang cukup jelas Ini menandakan bahwa jumlah DNA yang dihasilkan cukup banyak. Tetapi jika pada bagian bawah masih terdapat berkas maka kemungkinan hal itu disebabkan adanya protein lain pada bagian sela yang terikut sehingga bisa dikatakan bahwa isolasi DNA ini masih belum murni. Dari hasil menunjukkan masih terdapatnya pita-pita DNA terhadap bakteri *Escherichia coli* dan Dari hasil perbanyakkan DNA dengan menggunakan

metoda PCR yaitu tidak terdapatnya pita pada hasil elektroforesis dari kelima kultur bakteri *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ditemukannya gen *stx₁* yang menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli* O157:H7.



Gambar 6. Hasil elektroforesis dari isolat DNA *Escherichia coli* dan Hasil amplifikasi dari isolat DNA bakteri *Escherichia coli*.

4. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan sampel ikan mengandung bakteri *E.coli*. Uji dengan metoda MPN menunjukkan bahwa adanya positif koliform dengan kombinasi 333 adalah $\geq 2400 /100$ mL dan bakteri koliform fekal dengan kombinasi 332 jumlah koliform fekal adalah 1100 sel/100 mL dibandingkan dengan tabel Mc Crady. Uji resistansi antibiotik (amoxilin, ceftazidime, cefotaxime dan meropenem) diantara keempat antibiotik meropenem yang paling banyak menghasilkan zona bening, yang menunjukkan bahwa antibiotik ini memiliki kepekaan yang tinggi terhadap bakteri *E.coli*, Deteksi dengan mengamplifikasi DNA pada kelima kultur menunjukkan tidak ditemukannya *Escherichia coli* O157:H7 dari kelima kultur tersebut.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis laboratorium Bioteknologi Kimia FMIPA Unand..

Referensi

1. Adawyah, R., 2008, Pengolahan Dan Pengawetan Ikan. Penerbit Bumi Aksara : Padang.
2. Rahmaningsih, S., 2002, Analisis Jenis Endoparasit Pada Ikan Kapas-Kapas (*Gerres Filamentosus*) Yang Didaratkan Di Tpi Palang Tuban Jawa Timur..
3. Chahaya, I., 2003, IKAN Sebagai Alat Monitor Pencemaran. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Medan : Universitas Sumatera Utara. Radji,
4. Maksum, Puspaningrum, A., dan Atiek Sumiati, A., 2010, Deteksi Cepat Bakteri *Escherichia Coli* Dalam Sampel Air Dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer 16e1 Dan 16e2. Fakultas Mipa, Universitas Indonesia.
5. Kumar, H. S, Parvathi, A., and Karunasagar, I., 2005, Prevalence and Antibiotik Resistance of *Escherichia Coli* in Tropical Seafood. World Journal of Microbiology and Biotechnology 619–623. Mangalore India Spinger.
6. Marlina, Husni, E., dan Amalinda, F., 2009, Isolasi bakteri patogen *Escherichia coli* O157:H7 pada sampel seafood dan deteksigena *fliC₇* secara PCR. *Majalah Farmasi Indonesia* 73 – 76. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.
7. Kumar, Sanath S. K. Otta, I. and Karunasagar, I, 2001, Detection of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) in fresh seafood and meat marketed in Mangalore, India by PCR. *Journal Letters in Applied Microbiology* 334– 338. Mangalore, India.
8. Suardana, I. W., 2005, Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dan Shiga toxin *Escherichia coli* (STEC) Pada Feses Sapi, Daging Sapi, dan Feses Manusia Di Kabupaten Badung Propinsi Bali. .
9. Jamsari, 2007, Bioteknologi Pemula, Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekular, Unri Press.
10. Sahilah, Aishah, N., Noraida and Zuhair, H., 2010, Detection of Shiga Toxin 1 and 2 (*stx1* and *stx2*) Genes in *Escherichia coli* O157:H7 Isolated from Retail Beef in Malaysia by Multiplex Chain Reaction (PCR). *Journal Sains Malaysia*, 57–63.

PRODUKSI SELULASE DARI *Aspergillus niger* DAN KEMAMPUANNYA MENGHIDROLISIS AMPAS TEBU

Nova Aulina Rohana^a, Elida Mardiah^a, Afrizal^b

^aLaboratorium Bioteknologi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^bLaboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: elida_mardiah@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Cellulase enzymes has been produced by *A. niger* and used for the hydrolysis of bagasse. The enzyme produced by inoculate the fungus *A. niger* in to fermentation media with each contained inducer CMC, and inducer sugancane baggase. Fermentation is done by variation of 3, 6, and 9 days. After that the tested enzyme activity generated by the CMC substrate. Glucose formed then measured with a spectrophotometer with a wavelength of 580 nm. From the test results of enzyme activity with the highest CMC activity obtained at optimal fermentation for 6 days of bagasse inducer. This shows that bagasse without pretreatment induces the release of both enzymes. Cellulase activity obtained at 11.79 units. Then do the bagasse that was pretreatment with NaOH 5%. Hidrolysis done with varying concentrations of bagasse and bagasse hydrolysis time. The maximum glucose concentration bagasse generated at 3% and hydrolysis time of 60 minutes is equal to 286.25 mg / L by using enzyme extract obtained with inducer bagasse that was pretreatment.

Keywords: cellulase, sugarcane bagasse, hydrolysis

I. Pendahuluan

Indonesia memiliki potensi limbah biomassa/limbah pertanian yang sangat melimpah. Salah satunya adalah ampas tebu (bagas). Berdasarkan data dari Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI) ampas tebu yang dihasilkan sebanyak 60% dari ampas tebu tersebut dimanfaatkan oleh pabrik gula sebagai bahan bakar, bahan baku untuk kertas, industri jamur, bahan baku industri kanvas rem dan lain-lain. Oleh karena itu, diperkirakan sebanyak 40% dari ampas tebu tersebut belum dimanfaatkan.¹

Bagas sebagian besar mengandung lignoselulosa, air 48 - 52%, gula rata-rata 3,3%, dan serat rata-rata 47,7%. Serat bagas tidak dapat larut dalam air dan sebagian

besar terdiri dari selulosa, pentosan dan lignin. Sebagai bahan yang mengandung lignoselulosa, ampas tebu berpotensi sebagai salah satu sumber energy. Yang banyak diteliti adalah proses konversi lignoselulosa menjadi etanol, yang selanjutnya dapat digunakan untuk mensubstitusi bahan bakar bensin untuk keperluan transportasi.^{1,2}

Ampas tebu memiliki struktur yang kompleks. Oleh sebab itu, biomassa ampas tebu merupakan material yang lebih sulit didegradasi dan dikonversi dibandingkan material berbahan dasar dari pati. Namun demikian, hidrolisis ampas tebu relatif prospektif, karena juga menghasilkan monomer-monomer gula. Hidrolisis ampas tebu dapat dilakukan dengan hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatik. Hidrolisis

enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif.^{1,3}

Proses enzimatis merupakan proses ramah lingkungan berbahan baku terbarukan (renewable raw material). Oleh karena itu, hidrolisis limbah pertanian dapat memberikan nilai tambah bagi petani karena prosesnya ekonomis. Saat ini, hidrolisis enzimatis merupakan teknologi yang sangat menjanjikan guna mengkonversi biomassa menjadi gula.³

Hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu: selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentose (C5) dan heksosa (C6). Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa disebut selulase. Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri. Kapang yang bisa menghasilkan selulase adalah *A. niger*, *Trichoderma viride*, dan lain-lain. Bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, dan *Bacillus*.^{4,5}

A. niger adalah salah satu jenis mikroorganisme yang berkemampuan baik dalam menghasilkan enzim selulase. Enzim selulase merupakan enzim yang bersifat induktif. Produksi enzim selulase oleh mikroorganisme membutuhkan adanya inducer dalam medium. Senyawa inducer tersebut umumnya berupa substrat enzim. Substrat alami merupakan inducer yang baik untuk produksi enzim selulase daripada substrat murni CMC. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini digunakan ampas tebu dan senyawa CMC (Carboxymethyl Cellulose) sebagai inducer.

Produksi selulase diamati dari aktivitas enzim yang dihasilkan.^{4,6,7}

Hambatan proses hidrolisis selulosa baik secara asam maupun enzimatis adalah adanya struktur kristalin dan lignin yang berfungsi sebagai pelindung selulosa. Masalah tersebut dapat diatasi dengan pemberian perlakuan pendahuluan (*pretreatment*) terhadap bahan yang akan dihidrolisis. Salah satu metode perlakuan pendahuluan secara kimia adalah perlakuan delignifikasi menggunakan natrium hidroksida (NaOH). Delignifikasi dilakukan dengan larutan natrium hidroksida (NaOH), karena larutan ini dapat menyerang dan merusak struktur lignin, bagian kristalin dan amorf, memisahkan sebagian lignin dan hemiselulosa serta menyebabkan pengembangan struktur selulosa.^{8,9}

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan inducer yang baik dalam menginduksi produksi enzim selulase yang digunakan untuk hidrolisis ampas tebu. Kemudian menentukan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *A. niger*, menentukan konsentrasi ampas tebu maksimum yang dihidrolisis oleh enzim selulase, dan menentukan lama hidrolisis optimum oleh enzim selulase terhadap ampas tebu.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ampas tebu (bagas), natrium hidroksida (Wako pure), biakan murni *A. niger*, aquadest, Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck), asam sitrat (Merck), natrium sitrat (Wako pure), natrium karbonat (Na₂CO₃) (Merck), natrium bikarbonat (NaHCO₃) (Analar), K-Na tartrat (Merck), natrium sulfat (Na₂SO₄) (Merck), tembaga sulfat (CuSO₄ 5H₂O) (Merck), asam sulfat pekat (H₂SO₄ p.a) (Merck), asam pospat (H₃PO₄) (Merck), natrium tungstat (Merck), amonium molibdat (Fisons), ekstrak ragi (Difco), natrium nitrat (NaNO₃) (Merck), kalium dihidrogen pospat (KH₂PO₄) (Merck), magnesium sulfat (MgSO₄)

(Merck), besi(III) klorida (FeCl_3) (Merck), dan Carboxymethyl Cellulose (CMC) (Daichi).

Peralatan instrument yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Genesys 20), autoklave (Certo Clav), inkubator (Gallenkamp), timbangan analitis, hot plate, magnetik stirer, waterbath shaker, dan oven.

2.2 Prosedur penelitian

2.2.1 Persiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah ampas tebu segar yang didapat di tempat penjualan air tebu pasar raya, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari, dan dihaluskan sampai ukuran 2 mm (diayak).

2.2.2 Pretreatment ampas tebu dengan menggunakan natrium hidroksida 5%

Sebanyak 10 g ampas tebu yang telah dihaluskan (ukuran 2 mm) di tambahkan natrium hidroksida (NaOH) 5% sebanyak 500 mL (dengan perbandingan padat dan cairan yaitu 1:10), dalam erlenmeyer kemudian diautoklave selama 30 menit pada suhu 121 °C. Hasil pretreatment tersebut disaring menggunakan corong buchner dan dicuci dengan akuades sampai pH netral. Selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 105 °C selama 10 jam.

2.2.3 Persiapan Jamur

Jamur yang digunakan untuk memproduksi selulase adalah *A. niger* yang dikembang biakkan pada media potato dextrose agar (PDA) miring selama lima hari.

2.2.4 Pengaruh inducer dan lama fermentasi terhadap aktivitas enzim

100 mL media fermentasi cair dimasukkan dalam erlenmeyer dan masing-masingnya ditambahkan CMC 1 gram, dan ampas tebu dengan konsentrasi 1%. Selanjutnya disterilisasi dengan autoklave pada suhu 121 °C selama 15 menit. *A. niger* diinokulasikan kedalam 100 mL medium steril dalam erlenmeyer. Filtrat kultur didapatkan setelah inkubasi selama 3,6 dan 9 hari pada suhu 30 °C dengan cara penyaringan

menggunakan kertas saring, larutan enzim kasar yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap substrat CMC.

2.2.5 Penentuan aktivitas enzim selulase dengan substrat CMC

1 mL ekstrak enzim kasar ditambah dengan 1 mL CMC 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5 % dalam bufer sitrat pH 5,5 di dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50 °C. Kemudian dipanaskan 5 menit didalam air mendidih. Kemudian ditambahkan 1 mL reagen Nelson dan dipanaskan didalam air mendidih selama 20 menit lalu didinginkan di dalam temperatur ruang, setelah dingin ditambahkan 1 mL fosfomolibdat dan 7 mL akuades, selanjutnya dibiarkan selama 30 menit dan diukur dengan spektrofotometri pada λ 580 nm.

2.2.6 Pengaruh konsentrasi dan lama hidrolisis ampas tebu terhadap glukosa yang dihasilkan

1 mL ampas tebu (yang telah dipretreatment) dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5% dalam buffer sitrat pH 5,5 ditambahkan dengan 1 mL filtrat kultur. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50 °C. Produk yang terbentuk diukur dengan cara Somogy-Nelson. Untuk lama hidrolisis, 1 mL ampas tebu (yang telah dipretreatment) dengan konsentrasi 3%, dalam buffer sitrat pH 5,5 ditambahkan 1 mL filtrat kultur. Diinkubasi dengan variasi lama hidrolisis 30,45,60,75 dan 90 menit pada suhu 50 °C. Glukosa yang terbentuk diukur dengan cara Somogy-Nelson.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pretreatment ampas tebu dengan natrium hidroksida 5%

Berikut ini adalah tabel hasil pretreatment ampas tebu dengan natrium hidroksida 5 %

Tabel 1. Hasil pretreatment ampas tebu dengan NaOH 5%

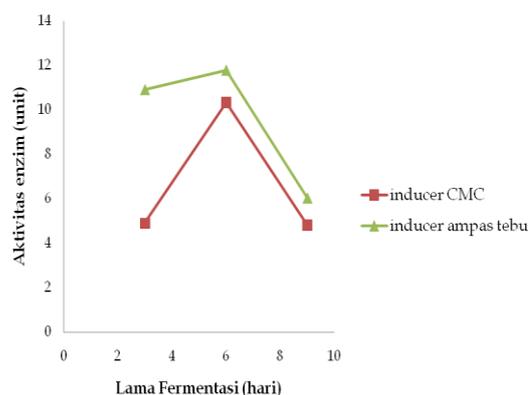
No.	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Berat akhir
1	10,0050	5,1049	51,02
2	10,0008	5,1003	50,99
3	10,0004	4,9334	49,33

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa pretreatment dengan menggunakan natrium hidroksida dapat menghilangkan setengah dari berat sampel awal. Ini dikarenakan oleh, lignin yang ikut terlarut bersama natrium hidroksida pada saat proses pretreatment karena lignin berikatan dengan natrium hidroksida yang akan membentuk garam dan larut dalam air pada saat proses penetralan, serta berkurangnya kadar air.

3.2 Pengaruh inducer dan lama fermentasi terhadap aktivitas enzim

Pada penelitian ini dilakukan variasi inducer yaitu CMC, dan ampas tebu dalam memproduksi enzim selulase kasar. Banyaknya enzim yang dihasilkan diamati dengan menentukan aktivitas enzim terhadap substrat CMC pada proses fermentasi. Hasil aktivitas enzim dapat dilihat pada gambar 1.

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa aktivitas enzim paling tinggi pada lama fermentasi 6 hari kedua inducer. Hal ini menunjukkan bahwa produksi enzim paling banyak pada fermentasi 6 hari. Pada waktu 3 hari aktivitas enzim selulase masih sedikit dan meningkat pada waktu fermentasi 6 hari, dan mengalami penurunan pada waktu fermentasi 9 hari. Pada fermentasi 3 sampai 6 hari, *A. niger* mengalami fasa eksponensial yang mengakibatkan produksi enzim meningkat. Pada fermentasi 9 hari, *A. niger* sudah melewati fasa eksponensial, tidak lagi memproduksi enzim, aktivitas enzim menurun karena kestabilan enzim tidak bisa dipertahankan didalam medium yang mengalami kehabisan nutrisi.

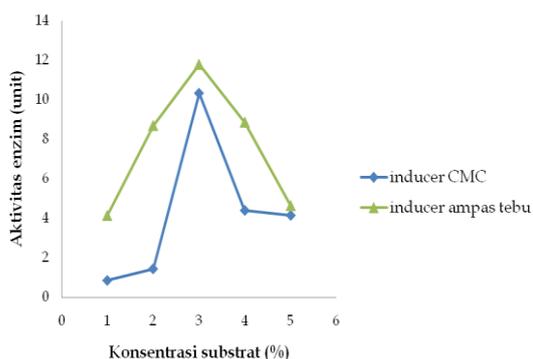


Gambar 1. Kurva hubungan antara lama fermentasi dengan aktivitas enzim

Ampas tebu merupakan inducer yang baik untuk merangsang keluarnya enzim dibandingkan dengan CMC. Hal ini disebabkan pada ampas tebu selulosanya masih terikat dengan lignin. Selulosa ini sulit untuk diuraikan, sehingga memberikan rangsangan yang kuat kepada *A. niger* untuk mengeluarkan enzim selulase yang banyak. Enzim selulase dengan inducer ampas tebu memberikan aktivitas yang tinggi terhadap substrat CMC karena CMC merupakan substrat murni yang mudah dicerna oleh enzim.

3.3 Penentuan aktifitas enzim selulase dengan substrat CMC

Hasil penentuan aktivitas enzim dari ketiga inducer dapat dilihat dari Gambar 2. Gambar 2 memperlihatkan bahwa konsentrasi substrat CMC optimum yang didapat yaitu pada konsentrasi CMC 3% untuk ke 2 inducer, dimana aktivitas dicapai yang paling tinggi yaitu 11,791 unit untuk inducer ampas tebu, 10,333 unit untuk inducer CMC. Inducer ampas tebu menghasilkan selulase yang memiliki aktivitas enzim yang lebih tinggi daripada inducer CMC karena dengan menggunakan inducer ampas tebu *A. niger* banyak menghasilkan enzim selulase, dan selulase ini mudah bereaksi dengan CMC yang merupakan substrat murni.^{10,11}



Gambar 2. Uji aktivitas enzim dengan variasi konsentrasi substrat CMC

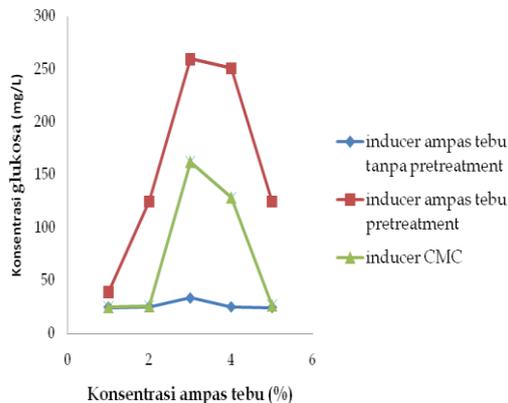
Pada konsentrasi substrat 4% dan 5% aktivitas enzim mengalami penurunan, hal ini terjadi karena enzim telah jenuh dengan substratnya, konsentrasi substrat yang terlalu tinggi dapat menghambat aktivitas enzim. Pada keadaan ini molekul substrat berinteraksi dengan senyawa kompleks enzim substrat (ES) membentuk ESS yang tidak produktif.

3.4 Pengaruh konsentrasi dan lama hidrolisis ampas tebu terhadap glukosa yang dihasilkan

Sebelum dihidrolisis, ampas tebu yang digunakan sebagai substrat dipretreatment dengan NaOH 5% sehingga lignin terlepas dari selulosa dan kerja enzim dalam menghidrolisis selulosa pada ampas tebu menjadi lebih mudah. Pada gambar 3 kadar glukosa yang dihasilkan oleh hidrolisis enzim selulase yang diproduksi dengan inducer ampas tebu tanpa pretreatment sangat rendah. Inducer ampas tebu tanpa pretreatment yang digunakan sebagai inducer masih banyak mengandung lignin dan hemiselulosa sehingga enzim yang disintesis oleh *A. niger* bukan hanya selulase saja tapi juga banyak xylanase. Karena enzim yang dihasilkan berupa campuran, akan mengakibatkan kemampuannya menghidrolisis substrat ampas tebu yang telah dipretreatment menjadi rendah. Karena kadar glukosa yang diperoleh sangat rendah, maka dilakukan hidrolisis menggunakan selulase yang diproduksi dengan inducer ampas tebu yang telah dipretreatment lebih dulu. Ternyata glukosa hasil hidrolisis mencapai 260 mg/L Selulase

yang dihasilkan dengan inducer ampas tebu pretreatment memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghidrolisis ampas tebu pretreatment, karena pada saat produksi enzim selulase, *A. niger* telah beradaptasi dengan ampas tebu yang telah dipretreatment dalam medium fermentasi. Kadar glukosa yang dihasilkan oleh hidrolisis enzim selulase dengan inducer ampas tebu yang tidak di pretreatment adalah 33,75 mg/L. Konsentrasi glukosa yang diperoleh sangat rendah dibandingkan dengan konsentrasi glukosa yang dihasilkan oleh enzim dengan inducer CMC. Enzim dengan inducer CMC menghasilkan konsentrasi glukosa 162,5 mg/L. Hal ini disebabkan karena selulosa yang dihasilkan dengan inducer ampas tebu tanpa pretreatment kemampuannya menghidrolisis ampas tebu sangat kecil sekali. Inducer ampas tebu tanpa pretreatment masih banyak mengandung lignin, dan hemiselulosa sehingga enzim yang disintesis oleh *A. niger* bukan hanya selulase saja tapi juga banyak menghasilkan enzim xylanase. Karena enzim yang dihasilkan berupa campuran maka kemampuannya menghidrolisis ampas tebu pretreatment menjadi rendah, hal ini dapat dilihat dari Gambar 3.

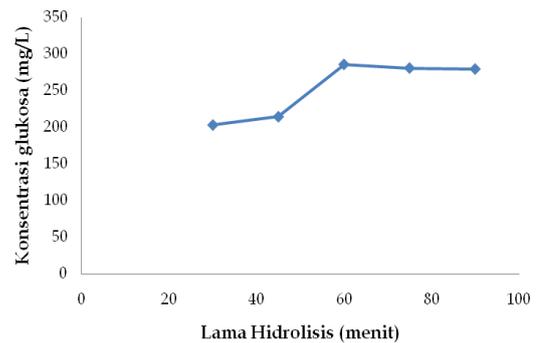
Disini enzim selulase lebih banyak dihasilkan karena pada ampas tebu yang telah dipretreatment yang digunakan sebagai inducer selulosanya sudah terpisah dari lignin dan hemiselulosa sehingga lebih maksimal untuk menginduksi enzim. Karena kadar glukosa yang diperoleh sangat rendah maka pada penelitian ini dilakukan hidrolisis menggunakan enzim selulase yang diproduksi dengan inducer ampas tebu yang dipretreatment terlebih dahulu. Ternyata glukosa hasil hidrolisis mencapai 260 mg/L.



Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi ampas tebu pretreatment Vs konsentrasi glukosa (mg/L)

Pada konsentrasi 4 % dan 5 % kadar glukosa yang didapatkan semakin menurun ini disebabkan oleh konsentrasi ampas tebu yang terlalu tinggi menyebabkan enzim selulase tidak mampu menghidrolisis ampas tebu tersebut, karena enzim telah jenuh dengan substrat ampas tebu pretreatment, dan konsentrasi substrat yang terlalu tinggi dapat menghambat aktivitas enzim.

Variasi lama hidrolisis dilakukan untuk melihat apakah dengan penambahan waktu hidrolisis ampas tebu dapat meningkatkan kadar glukosa, variasi lama hidrolisis yang digunakan yaitu 30 menit; 45 menit; 60 menit; 75 menit; dan 90 menit. Kurva hubungan lama hidrolisis ampas tebu dengan konsentrasi glukosa dapat dilihat pada gambar 4. Dari gambar 4 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka semakin tinggi kadar glukosa yang didapatkan, karena semakin lama waktu hidrolisis maka kemampuan enzim selulase dalam menghidrolisis ampas tebu semakin tinggi. Pada waktu 60 menit, kontak antara enzim dengan substrat berlangsung sempurna. Konsentrasi glukosa yang didapatkan yaitu sebesar 286,25 mg/L.



Gambar 4. Kurva hubungan lama hidrolisis Vs Konsentrasi Glukosa

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa produksi enzim selulase dari *A. niger* dipengaruhi oleh jenis inducer yang digunakan. Selulosa alami ampas tebu lebih baik daripada CMC dalam menginduksi keluarnya enzim. Produksi enzim yang paling banyak diproduksi oleh kedua inducer adalah pada lama fermentasi 6 hari. Kemudian aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dengan inducer ampas tebu adalah 11,791 unit.

Selulase dari *A. niger* mampu menghidrolisis ampas tebu sampai konsentrasi 3 % dengan lama hidrolisis 60 menit. Konsentrasi glukosa yang didapatkan dari hasil hidrolisis ampas tebu 3% adalah 286,25 mg/L.

V. Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada analis Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Hermiati, E., Mangunwidjaja, D., Sunarti T. C., Suparno, O., dan Prasetya, B., 2010, Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu Untuk Produksi Bioetanol.. *Jurnal Litbang Pertanian*. 121-128.
2. Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., dan Wijanarko A., 2007, Pemanfaatan

- Selulosa Bagas Untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak Dengan Enzim Xylanase. *Makara Teknologi*, Vol. 11, 17-24.
3. Sa'adah, Noviana, I. S., dan Abdullah. Produksi Enzim Selulase dari *A. niger* Menggunakan Sustrat Jerami dengan Sistem fermentasi padat, *Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang*.
 4. Wayan, G. I. B, Aryanta, W. R., Bagus, I., dan Darma, S., **2011**, Produksi Selulase Kasar Dari Kapang *Trichoderma viride* Dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi, *Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Jurnal Biologi XV (2)*, 29-33.
 5. Ilyas, and Umbrin, **2012**, Exploration of indigenous agrowastes for cellulose production by *A. niger*. *African Journal of Biotechnology*, 1-2.
 6. Chinedu-Nwodo, S, **2007**, Effect of Carbon Sources on Cellulase (EC 3. 2. 1. 4) Production by *Penicillium chrysogenum* PCL501, *African Journal of Biochemistry*. Vol 1 (1), 6-10.
 7. Orchidea, R., Krishnanta A. W., and , D., Acid Hydrolysis Pretreatment of Bagasse - Lignocellulosic Material for Biorthanol Production, *Department of Chemical Engineering*, 1-9.
 8. Jiele, X., **2009**, Sodium Hydroxide Pretreatment of Switchgrass for Enzymatic Saccharification Improvement. *An Asabe Meeting Presentation*, 1-10.
 9. Sinaga, F. C., Pengaruh pH Dan Inokulum Pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas Untuk Produksi Enzim Selulase, *Fakultas Teknik Universitas Riau*.
 10. Pietrobon, and Cristina, V., **2011**, Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Pretreated with Acid or Alkali. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, Vol 54, 229-233.

PEMANFAATAN ASAP CAIR TEMPURUNG KELAPA PADA PEMBUATAN IKAN KERING DAN PENENTUAN KADAR AIR, ABU SERTA PROTEINNYA

Sanny Edinov, Yefrida, Indrawati, dan Refilda

Laboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: edinovs03@gmail.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Liquid smoke has been obtained from the pyrolysis of coconut shell. The liquid smoke characterized by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Characterization results include dodecanoat acid (2.3 %), myristic acid (3.3 %), butyric acid (3.8 %), propionic acid (4.7 %), acetic acid (5.1 %), carbamic acid (10.2 %) and palmitic acid (19.9 %). Liquid smoke is applied to the manufacture of dried fish. Making dried fish using NaCl, NaCl-liquid smoke and liquid smoke for the preservatives. Organoleptic (odor, color and shelf life) and chemical tests (moisture, ash and protein content) is done for all dried fish. Organoleptic and chemical tests showed, dried fish preserved with NaCl-liquid smoke is the best preserved. It can be seen from smell that is not too smelled of smoke, less brown color, shelf life of 63 days, water content of 32.9 %, ash content of 24.4 % and protein content of 13.6%.

Keywords: liquid smoke, GC-MS, dried fish, organoleptic, chemical tests

1. Pendahuluan

Pengawetan dengan cara pengasapan sejak dulu telah sering digunakan. Banyaknya masyarakat yang masih menggunakan metode pengasapan secara tradisional membuktikan bahwa cara pengawetan menggunakan asap cair masih jarang digunakan secara luas oleh masyarakat maupun dalam industri makanan. Tetapi, penggunaan asap cair dalam mengawetkan ikan telah semakin dimanfaatkan karena dapat menciptakan citarasa yang diinginkan dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.¹

Selama lebih dari 40 tahun pemberi rasa asap (*Smoke Flavouring*) telah banyak digunakan sebagai aditif penyedap komersial untuk varietas makanan, seperti daging, ikan, susu (keju), kacang-kacangan dan produk makanan ringan. Bahan-bahan makanan tersebut merupakan beberapa

contoh bahan makanan yang sering dijadikan produk asapan secara tradisional. Perasa asap dianggap sebagai zat aditif alami. Asap diperoleh dari kayu sebagai produk dekomposisi termal dalam kondisi fisik (suhu, akses oksigen) yang terkontrol, dimana diikuti oleh pembentukan dua fase, yaitu air dan tar.²



Gambar 1. Ikan Tandeman

Pengasapan ikan merupakan metode pengawetan memberikan cita rasa yang khas, warna terhadap produk dan meningkatkan daya simpan. Hasil dari penggabungan tahap pengasapan dan

adanya aktivitas antimikroba dari komponen senyawa yang terdapat dalam asap (formaldehida, asam karboksilat dan fenol). Teknik tradisional melibatkan beberapa tahapan yang dimulai dari persiapan ikan sebelum proses penggaraman hingga proses fillet ikan diasap.

Asap diproduksi oleh serutan bara atau serbuk gergaji dari jenis kayu tertentu yang ditempatkan dalam oven langsung, di mana letaknya di bawah ikan yang menggantung. Selanjutnya, asap dapat ditambahkan dari ruang asap, dimana asap berasal dari generator asap eksternal yang kondisi suhu dan udaranya terkendali.

Selama pembakaran senyawa yang tidak diinginkan dapat terbentuk, terutama *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)*. Senyawa ini sangat karsinogenik. PAH bereaksi dengan protein dan asam nukleat sehingga dapat menyebabkan terjadinya mutasi sel dan akhirnya akan mengganaskan. Selain menyebabkan kanker, PAH juga telah dilaporkan menyebabkan *hemato, kardio, ginjal, saraf, immuno, reproduksi* dan perkembangan toksisitas pada manusia dan laboratorium hewan. Kontaminasi PAH terhadap makanan dapat dikurangi secara signifikan dengan menggunakan perasa asap cair. Asap cair diproduksi dari asap kental yang kemudian difraksinasi dan dimurnikan.³

Asap cair dapat digunakan sebagai pengawet makanan karena adanya sifat antimikroba dan antioksidan senyawa, seperti aldehid, asam karboksilat dan fenol. Teknik pengasapan dengan menggunakan asap cair memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan teknik pengasapan tradisional. Pengasapan dengan asap cair mudah, cepat, keseragaman produk, karakteristik makanan yang didapatkan baik serta tidak terdepositnya senyawa karsinogenik hidrokarbon aromatik polisiklik dalam makanan yang diawetkan.⁴

Asap cair merupakan hasil sampingan dari industri arang aktif tersebut mempunyai nilai ekonomi yang tinggi jika

dibandingkan dengan dibuang ke atmosfer. Asap cair diperoleh dari pengembunan asap hasil penguraian senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam kayu sewaktu proses pirolisis. Untuk mendapatkan asap yang baik sebaiknya menggunakan kayu keras seperti kayu bakau, kayu rasamala, serbuk dan gergajian kayu jati serta tempurung kelapa sehingga diperoleh produk asapan yang baik.⁵

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan asap cair tempurung kelapa pada pembuatan ikan kering serta membandingkan kualitas ikan kering yang dihasilkan yaitu ikan kering menggunakan pengawet NaCl, campuran NaCl-asap cair dan asap cair, ditinjau dari bau, warna, daya simpan, kadar air, kadar abu serta kadar proteinnya.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran selen (SeO_2 , K_2SO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), asam klorida (HCl) 0,01 N (Merck), natrium hidroksida (NaOH) 30 % (Merck), asam borat (H_3BO_3) 2 % (Merck), asam nitrat (HNO_3), natrium klorida (NaCl) 30 %, indikator metil merah (mm), indikator phenolphthalein (pp), akuades dan akuabides.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS Shimadzu QP 2010 Plus), seperangkat alat pembuat asap cair, desikator, oven (Memmert), tanur listrik (Nabertherm), neraca analitik (Sartorius), kertas saring (Whatman No. 42), cawan penguap, cawan porselen, labu Kjeldahl, wadah plastik, waring, aluminium foil dan peralatan gelas.

2.2. Prosedur penelitian

Pembuatan Asap Cair

Tempurung kelapa kering sebanyak ± 2000 gram dimasukkan ke wadah *stainless steel*, kemudian ditutup untuk dilakukan pirolisis. Rangkaian alat kondensasi

dipasang dan pemanasan pun dilakukan. Kondensasi diakhiri sampai asap cair tidak ada yang menetes ke dalam tabung penampung. Cairan yang diperoleh merupakan campuran heterogen antara asap cair dan tar. Cairan disimpan selama satu minggu agar tar dan pengotornya mengendap, kemudian disaring. Filtrat digunakan untuk proses selanjutnya.

Karakterisasi Asap Cair dengan GC-MS

Sampel asap cair dikarakterisasi dengan GC-MS ShimadzuQP 2010 Plus dengan kondisi operasional: temperatur injeksi 210 °C, temperatur detektor 300 °C, temperatur kolom terprogram 100–300 °C, detektor FID, gas pembawa helium, tekanan 43,5 kPa, jenis kolom Rtx_5MS (30 m x 0,25 mm ID), waktu pengukuran 13 menit. Hasil karakterisasi didapatkan sebagai puncak-puncak. Puncak-puncak yang muncul kemudian diidentifikasi.

Pembuatan Ikan Tandeman Kering

Dibuat 4 perlakuan yang berbeda untuk pembuatan ikan tandeman kering, dimana perendaman ikan dilakukan dengan variasi larutan, yaitu sebagai berikut: larutan NaCl 30 %, larutan NaCl 30 % + asap cair 2 %, larutan asap cair 2 %, air. Semua perlakuan perendaman dilakukan pada wadah plastik yang ditutup selama satu hari. Setelah proses perendaman selesai, ikan dikeluarkan dan dikeringkan. Pengeringan ikan dilakukan selama dua minggu dengan bantuan sinar matahari.

Penentuan Kadar Air Ikan Kering⁶

Kadar air ditentukan dengan cara sebagai berikut: Timbang sampel sebanyak ± 2 gram dalam cawan yang telah diketahui beratnya. Masukkan dalam oven dengan suhu 105 °C selama 2 jam. Kemudian didinginkan dalam desikator selama ± 30 menit dan ditimbang. Panaskan lagi dalam oven, didinginkan dalam desikator dan diulangi sampai berat konstan.

Penentuan Kadar Abu Ikan Kering⁷

Kadar abu ditentukan dengan cara sebagai berikut: Timbang sampel ± 2 gram dalam cawan porselen yang telah diketahui

beratnya. Arangkan di atas nyala pembakar, lalu abukan dalam tanur listrik pada suhu maksimum 550°C sampai pengabuan sempurna. Dinginkan dalam desikator, lalu timbang sampai berat konstan.

Penentuan Kadar Protein Ikan Kering⁷

Kadar protein ditentukan dengan metode Mikro-Kjeldahl. Tahapannya adalah sebagai berikut: Sampel ditimbang sebanyak ± 0,5100 gram dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Campuran selen ditimbang 2 gram kemudian tambahkan campuran selen pada sampel dalam labu Kjeldahl. H₂SO₄ pekat ditambahkan 25 mL dan beberapa butir batu didih ke dalam labu Kjeldahl. Proses destruksi dilakukan di atas nyala api kompor gas dengan api kecil, dimana labu Kjeldahl dipasang miring 45° pada standar dan klem saat proses destruksi berlangsung. Api kompor gas dibesarkan setelah pemanasan sekitar 15 menit dan dikocok larutan yang didestruksi setiap 15 menit. Destruksi dihentikan jika warna larutan telah berubah menjadi hijau jernih. Jika larutan telah hijau jernih, proses destruksi dihentikan dan dinginkan larutan.

Larutan hasil destruksi dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, tepatkan volumenya. Dipipet 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu suling. Larutan NaOH 30% ditambahkan 5 mL dengan pipet takar ke dalam labu suling. Rangkaian alat distilasi dipasang. Erlenmeyer untuk menampung distilat diisi 10 mL H₃BO₃ 2 % dan 3 tetes indikator metil merah. Mulut labu suling ditutup dengan gabus, distilasi larutan tersebut. Proses distilasi dihentikan jika warna distilat telah berwarna kuning. Pendingin lurus dibilas dengan akuades dan hasil bilasan ditampung pada distilat. Hasil distilasi dititer dengan HCl 0,01 N sampai berwarna oranye. Kemudian dicatat volume HCl yang terpakai. Hal yang sama dilakukan juga untuk larutan blanko.

3. Hasil dan Pembahasan

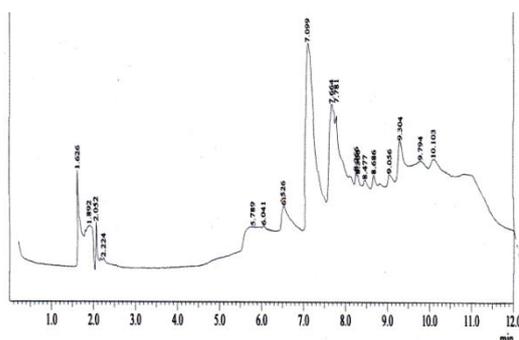
Pengamatan Warna dan Bau Asap Cair

Pada pembuatan asap cair ini, tempurung kelapa dikeringkan dan diperkecil

ukurannya. Tempurung kelapa tersebut dimasukkan ke dalam panci *stainless steel* asap cair yang dihasilkan dari pirolisis 2000 gram tempurung kelapa didapatkan sebanyak 400 mL. Warna yang dihasilkan dari asap cair berwarna coklat pekat dan berbau asap cukup keras. Setelah dididihkan selama satu minggu terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah berwarna hitam dan bagian atas berwarna coklat bening. Setelah satu minggu, cairan tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan cairan berwarna coklat bening. Bau yang dihasilkan asap cair yang sudah disaring tidak sekeras sebelumnya namun tetap berbau asap.

Hasil Karakterisasi Senyawa dalam Asap Cair dengan Menggunakan GC-MS

Adapun kandungan senyawa yang terdapat dalam asap cair dapat dilihat pada kromatogram di Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram Asap Cair

Berdasarkan kromatogram di atas, kandungan senyawa yang terdapat dalam asap cair adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Kandungan Senyawa dalam Asap Cair

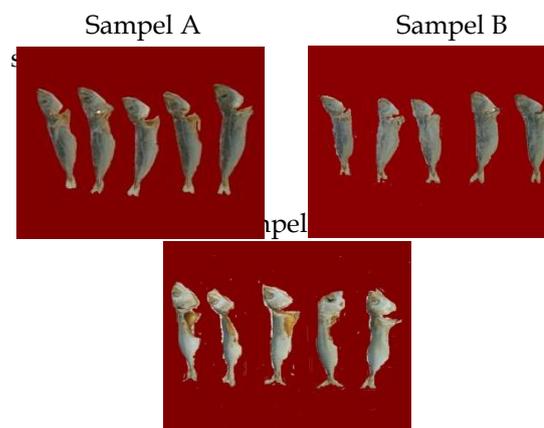
Nama Senyawa	Kandungan Senyawa (%)
Asam Karbamat	10,24
Asam Propionat	4,67
Asam Asetat	5,08
Asam Dodekanoat	2,25
Asam Miristat	3,32
Asam Palmitat	19,89
Asam Butirat	3,82

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa dalam asap cair ini kandungan asam palmitat paling banyak, yaitu 19,89 % sedangkan

asam dodekanoat paling sedikit, yaitu 2,25 %. Dengan GC-MS dapat diketahui senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel uji. Senyawa asam mempunyai peranan sebagai antimikroba dan membentuk cita rasa pada produk asapan. Komponen asam menghambat pembentukan spora, pertumbuhan bakteri, fungi dan aktivitas virus pada produk asapan.⁸ Jadi, hasil karakterisasi ini menunjukkan bahwa kandungan utama dalam asap cair adalah senyawa asam.

Pembuatan Ikan Kering

Proses pengeringan ikan tandem dilakukan selama 2 minggu sambil ikan kering tersebut diamati sampai terjadi perubahan.



Gambar 3. Ikan Kering

Dari pengamatan, didapatkan hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Ikan Kering

Kode Sampel	Hasil Pengamatan		
	Bau	Warna	Daya Simpan (Hari)
A	Bau NaCl	Coklat muda	60
B	Sedikit bau asap	Kurang coklat	63
C	Bau asap	Coklat	70
D	Bau busuk	Coklat tua	0

Keterangan: A, B, C dan D merupakan ikan kering yang masing-masing direndam dengan pengawet yang berbeda, dimana A (ikan kering dengan pengawet NaCl), B (ikan kering dengan

pengawet NaCl-asap cair), C (ikan kering dengan pengawet asap cair) dan D (ikan kering dengan air).

Dari hasil pengamatan, setelah dilakukan pengawetan, A, B, C dan D mempunyai kondisi fisik (tekstur daging dan warna), bau, serta daya simpan yang berbeda-beda. Ditinjau dari kondisi fisik, tekstur daging B lebih tebal daripada A dan C tetapi warna B kurang menarik karena lebih pucat dibandingkan A dan C. Ditinjau dari bau, masing-masing ikan kering (A, B dan C) memiliki khas tersendiri karena larutan yang digunakan untuk pengawetannya berbeda-beda. Ditinjau dari daya simpannya, C memiliki daya simpan yang lebih lama daripada A dan B yaitu 70 hari.

Untuk ikan D, ikan tersebut telah membusuk. Hal ini dapat dilihat dari kulit berwarna suram pucat dan berlendir banyak, sisik mudah lepas dari tubuh, mata tampak suram, berbau tengik, insang berwarna coklat tua, daging lunak dan dalam air ikan tersebut mengapung di permukaan. Jadi, ikan D tidak dapat digunakan untuk proses selanjutnya. Berdasarkan literatur yang didapatkan, ikan kering yang baik memiliki ciri-ciri sebagai berikut: warna daging mendekati warna asli ikan segar, tidak berbau asam atau tengik, tidak terdapat bercak noda dan tidak lembek (kaku).

Untuk daya simpan ikan kering, dilakukan pengamatan sampai ikan kering menunjukkan tanda-tanda kerusakan. Ciri-ciri ikan kering yang rusak adalah daging ikan menjadi lunak dan mudah terlepas dari tulangnya, berlendir, adanya bercak-bercak merah dan ikan berbau tengik.⁹

NaCl dan asap cair bersifat sebagai pengawet karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk.^{9, 10} Dari ikan kering A, B dan C dapat dilihat bahwa C memiliki daya simpan lebih lama. Jadi asap cair memiliki sifat antimikroba yang lebih baik daripada NaCl, dimana asap cair dapat memperpanjang daya simpan ikan kering sampai 70 hari.

Kadar Air Ikan Kering

Pada penentuan kadar air ikan kering, hasil yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Kadar Air Ikan Kering

Kode Sampel	Kadar Air (%)
A	37,30
B	32,89
C	15,48

Keterangan: A, B, C merupakan ikan kering yang masing-masing direndam dengan pengawet yang berbeda, dimana A (ikan kering dengan pengawet NaCl), B (ikan kering dengan pengawet NaCl-asap cair) dan C (ikan kering dengan pengawet asap cair).

Dari hasil yang didapatkan, ikan A, B dan C memiliki kadar air sebesar 37,30 %, 32,89 % dan 15,48 %. Berdasarkan literatur yang didapatkan, nilai kadar air maksimal ikan asin kering adalah sebesar 40 %.⁷ Jadi semua ikan kering yang diawetkan memenuhi persyaratan kadar air yang ditetapkan. Kadar air merupakan komponen penting dalam bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi kenampakan tekstur. Bahkan dalam bahan makanan kering pun terkandung air dalam jumlah tertentu. Semua bahan makanan mengandung air dalam jumlah yang berbeda-beda. Kandungan air dalam bahan makanan ikut menentukan *acceptability*, kesegaran dan daya tahan bahan itu.¹¹

Kadar Abu Ikan Kering

Pada penentuan kadar abu ikan kering, hasil yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Kadar Abu Ikan Kering

Kode Sampel	Kadar Abu (%)
A	24,37
B	24,40
C	9,29

Keterangan: A, B, C merupakan ikan kering yang masing-masing direndam dengan pengawet yang berbeda, dimana A (ikan kering dengan pengawet NaCl), B (ikan kering dengan pengawet NaCl-asap cair) dan C (ikan kering dengan pengawet asap cair).

Dari hasil yang didapatkan, ikan A, B dan C memiliki kadar abu sebesar 24,37 %, 24,40 %

dan 9,29 %. Dari tabel dapat dilihat bahwa ikan A dan B memiliki kadar abu yang besar daripada C. Peningkatan kadar abu sangat erat kaitannya dengan kandungan NaCl pada sampel. Semakin tinggi kadar NaCl maka semakin tinggi kadar abunya. Pemberian NaCl menyebabkan penambahan jumlah mineral natrium di dalam daging ikan sehingga kadar abu juga meningkat.¹¹

Kadar Protein Ikan Kering

Pada penentuan kadar protein ikan kering, hasil yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Kadar Protein Ikan Kering

Kode Sampel	Kadar Protein (%)
A	6,54
B	13,57
C	8,97

Keterangan: A, B, C merupakan ikan kering yang masing-masing direndam dengan pengawet yang berbeda, dimana A (ikan kering dengan pengawet NaCl), B (ikan kering dengan pengawet NaCl-asap cair) dan C (ikan kering dengan pengawet asap cair).

Dari hasil yang didapatkan, ikan A, B dan C memiliki kadar protein sebesar 6,54 %, 13,57 % dan 8,97 %. Kadar protein ikan B lebih besar daripada ikan A dan C. Struktur protein A, B dan C tidak stabil sehingga mengalami denaturasi. Adanya kandungan NaCl dan asap cair memiliki tekanan osmotik yang tinggi sehingga dapat menarik air dari daging ikan serta menyebabkan terjadinya denaturasi dan koagulasi protein sehingga terjadi pengerutan daging ikan dan protein terpisah. Protein akan mengendap dan tidak mudah larut. Penambahan NaCl dan asap cair mengakibatkan kadar protein akan meningkat.³ Jadi dari tabel di atas dapat disimpulkan bahwa ikan kering B memiliki kadar protein lebih tinggi daripada ikan kering A dan C.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa asap cair dapat

diaplikasikan sebagai pengawet pada pembuatan ikan kering. Kualitas ikan kering yang dibuat dengan larutan NaCl-asap cair lebih bagus daripada ikan kering yang dibuat hanya dengan larutan asap cair atau pun hanya dengan larutan NaCl. Hal ini dapat dilihat dari bau yang tidak terlalu berbau asap, warna kurang coklat (hampir sama dengan warna daging ikan segar), daya simpan 63 hari, kadar air sebesar 32,89 %, kadar abu sebesar 24,40 % serta kadar proteinnya sebesar 13,57 %.

5. Ucapan terima kasih

Terima kasih diucapkan kepada staf laboratorium Kimia Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Swastawati, F., Eko Susanto, Bambang Cahyono, Wahyu Aji Trilaksono, **2012**, Quality Characteristic and Lysine Available of Smoked Fish. *APCBEE Procedia Journal.*, No. 2, hal. 1-6
2. Kostyra, E., Nina Baryłko-Pikielna, **2006**, Volatiles Composition and Flavour Profile Identity of Smoke Flavourings. *Food Quality and Preference Journal.*, No. 17, hal. 85-95
3. Visciano, P., M. Perugini, F. Conte, M. Amorena, **2008**, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Processed by Traditional Flue Gas Smoking and by Liquid Smoke Flavourings. *Food and Chemical Toxicology Journal.*, No. 46, hal. 1409-1413
4. Alcicek, Z., **2011**, The Effects of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oil Concentration on Liquid-Smoked Vacuum-Packed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Fillets During Chilled Storage. *Food Chemistry Journal.*, No. 128, hal. 683-688
5. Prananta, J., **2008**, Pemanfaatan Sabut dan Tempurung Kelapa serta Cangkang Sawit untuk Pembuatan Asap Cair Sebagai Pengawet Makanan Alami. *Skripsi.*, Universitas Malikussaleh, Aceh

6. Sudarmadji, S., **1984**, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty Yogyakarta, hal. 77
7. Standar Nasional Indonesia, **1992**, *Cara Uji Makanan dan Minuman*, Departemen Perindustrian, hal. 4 dan 7-9
8. Wahyuni, R., **2007**, Pengaruh persentase dan lama perendaman asap cair terhadap kualitas sosis asap ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Primordia.*, Vol. 3 No. 2, hal. 95-104
9. Zainuddin, Muhammad, **2010**, *Studi tentang teknik pengolahan ikan kering jambal roti di ud. joyo desa brondong kecamatan brondong kabupaten lamongan propinsi Jawa Timur.*, *Praktek Kerja Lapangan.*, Universitas PGRI Ronggolawe, Tuban
10. Arizona R., Edi Suryanto dan Yuny Erwanto, **2011**, The effect of canary shell liquid smoke concentration and storage time on chemical and physical quality of beef. *Buletin Peternakan.*, Vol. 35 No. 1, hal. 50-56
11. Rahmani, Yuniarta dan Erryana Martati, **2007**, Effect of wet salting method on the characteristic of salted snakedhead fish (*Ophiocephalus striatus*). *Jurnal Teknologi Pertanian.*, 8 (3), hal. 142-152

ANALISIS WARNA, BAU, pH, Fe, Zn DAN N-ORGANIK PADA KOMPOS YANG DIBUAT DARI TANDAN KELAPA SAWIT DENGAN MENGGUNAKAN AKTIVATOR LUMPUR AKTIF PT. BUMI SARIMAS INDONESIA (Cocomas)

Muhammad Refqi Zaki Yul Haq, Indrawati, dan Rahmiana Zein

Laboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: mimiedison@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The study was conducted to analyze the color, odor, pH, Fe, Zn, and organic nitrogen in compost made of palm bunches by using activated sludge activator obtained from PT. Bumi Sarimas Indonesia (Cocomas). Compost is prepared by varying the weight ratio of activated sludge Cocomas activators and palm bunches that are 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5. Analysis of Iron (Fe) and Zinc (Zn) content in the palm bunches compost produced is carried out by Atomic Absorption Spectrophotometer (SSA) where the rate of Fe and Zn found to be 0,07% and 0,16%. The largest Fe rate was resulted from 1:5 ratio (0,61%). For the rate of Zn found in bunches of oil palm and activator Cocomas were 0.007 % and 0.05 % with the largest rate of Zn on the fifth comparison was done is at 1:5 ratio (0,02%). For the determination of N-organic level using the Kjeldahl method, in which the levels N-organic in palm bunches and activator of activated sludge of Cocomas was 0,54% and 0,33%. The largest rate of N-organic is at the ratio of 1:1 (2,52%). For analysis of pH was measured using a pH meter, while for the color and odor analysis studied visually. From the analysis of color, odor, pH in 1:5 ratio, Fe and Zn content in compliance with ISO standards, while for pH only on the ratio of 1:4 which meets ISO standards and for the analysis of N-organic beyond ISO standards.

Keywords: Compost, Bunches of Oil Palm Empty, Activated Sludge, Atom Absorption Spectrophotometer (SSA)

I. Pendahuluan

Kelapa sawit di Indonesia pada saat ini merupakan salah satu komoditi yang mengalami perkembangan yang sangat pesat. Hal ini sejalan dengan perluasan areal perkebunan sawit di beberapa daerah di Indonesia.

Kelapa sawit sebagai tanaman penghasil minyak kelapa sawit (CPO - *crude palm oil*) merupakan salah satu tanaman unggulan perkebunan yang menjadi sumber penghasil

devisa non-migas bagi Indonesia. Selain diolah untuk minyak, bagian kelapa sawit lainnya juga bermanfaat sebagai bahan bakar alternatif biodiesel, sebagai nutrisi pakan ternak dan pupuk yang berasal dari cangkang hasil pengolahan, sebagai bahan pembuat *particle board* yang berasal dari batang dan pelepahnya, sebagai bahan dasar industri lainnya yaitu industri sabun, industri kosmetik, dan industri makanan. Selain itu, bagian kelapa sawit yang tidak diperlukan seperti tandan kelapa sawit

(TKS) dapat dimanfaatkan sebagai pupuk kompos.

Pemanfaatan TKS pada saat ini masih relatif terbatas, yaitu dapat digunakan langsung sebagai mulsa di perkebunan kelapa sawit, atau dibakar dalam *incinerator* dan abunya dimanfaatkan sebagai substitusi pupuk kalium. Pemanfaatan TKS sebagai pupuk kalium atau mulsa masih dinilai tidak ekonomis, karena biaya transportasi dari pabrik kelapa sawit dan penyebarannya di kebun kelapa sawit memerlukan biaya yang relatif tinggi. Di samping itu pembakaran TKS di *incinerator* menyebabkan terjadi polusi udara.

Salah satu solusi untuk mengatasi masalah limbah ini yaitu dengan pemanfaatan tandan kelapa sawit menjadi kompos yang memiliki nilai ekologi dan ekonomi yang tinggi. Pengolahan limbah perkebunan kelapa sawit lainnya yang direkomendasikan untuk dikaji pengembangannya adalah industri pengolahan TKS menjadi pupuk kompos. Hal ini didukung dengan semakin meningkatnya permintaan pupuk kompos sebagai salah satu bentuk dari asupan organik bagi tanaman dewasa ini.

Konsumen khususnya di negara maju telah giat menghindari bahan makanan dengan asupan bahan anorganik seperti pupuk kimia dan pestisida/ herbisida dosis tinggi. Model pertanian organik pun telah semakin diminati oleh pelaku agribisnis. Permintaan pupuk organik yang semakin pesat merupakan salah satu peluang pemanfaatan TKS menjadi pupuk kompos secara ekonomis. Pengolahan TKS segar menjadi pupuk kompos pada dasarnya memiliki manfaat ganda yakni jawaban atas permasalahan limbah padat TKS serta manfaat ekonomis sebagai pemasok unsur hara organik bagi tanaman.

Besarnya nilai investasi industri pengolahan pupuk kompos dari limbah tandan kosong kelapa sawit tersebut menyebabkan penulis mencoba untuk merekomendasikan

pengembangan pembuatan pupuk kompos dari TKS ini.

Untuk pengolahan TKS menjadi kompos, cara yang paling banyak digunakan yaitu pengomposan secara aerobik karena murah dan mudah dilakukan, serta tidak membutuhkan kontrol proses yang terlalu sulit. Sedangkan pengomposan secara anaerobik memanfaatkan mikroorganisme yang tidak membutuhkan udara dalam mendegradasi bahan organik.

Secara alami jika tandan kelapa sawit dibiarkan saja akan mengalami dekomposisi. Namun, dekomposisi ini memerlukan waktu yang sangat lama, berbulan-bulan hingga bertahun-tahun. Agar proses pengomposan dapat berlangsung lebih cepat dapat ditambahkan aktivator. Aktivator mengandung mikroorganisme dekomposer yang berperan aktif dalam mempercepat proses pengomposan.

Lumpur aktif limbah cocomas mengandung mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai dekomposer yang mampu mendegradasi senyawa-senyawa yang ada pada limbah menjadi bentuk yang ramah lingkungan. Mikroorganisme ini mampu berkembang dengan cepat, sehingga sangat dimungkinkan penggunaan lumpur aktif cocomas ini untuk dijadikan sebagai aktivator dalam pembuatan kompos.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan antara lain : Aktivator lumpur aktif cocomas, tandan kelapa sawit, indikator conway (BCG+MM), selenium mixture, akuabides, asam sulfat (H_2SO_4) 98%, asam perklorat ($HClO_4$) pa, asam nitrat (HNO_3) pa, sekam padi, rajut nilon, buffer standar pH 4,0 dan 7,0.

Alat yang digunakan antara lain: Komposter (berupa keranjang), pengaduk, ayakan, labu kjedahl, pemanas/*block digester*, desikator, erlenmeyer, labu ukur, labu destilasi, pipet

takar, buret, gelas ukur, pH meter, botol film, pipet tetes dan SSA Varian AA240.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Persiapan Sampel

2.2.1.1 Tandan Kelapa Sawit

Limbah industri pengolahan kelapa sawit yang diambil dari lubuk alung berupa tandan kelapa sawit, kemudian dicacah kecil-kecil dan dihomogenkan.

2.2.1.2 Lumpur Aktif

Lumpur aktif yang telah mengalami proses aerasi diambil dari limbah cair PT. Bumi Sarimas Indonesia, Kab. Padang Pariaman.

2.2.2 Pengomposan Tandan Kelapa Sawit

Ke dalam keranjang yang sudah dilubangi bagian bawahnya dimasukan kardus dan sekam padi yang telah dibungkus dengan rajut nilon untuk melapisi bagian dalam. Kemudian dibuat variasi perbandingan berat (kg) tandan sawit dengan lumpur aktif Cocomas yaitu : 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5. Setelah didapatkan perbandingan berat antara lumpur aktif Cocomas dengan tandan sawit, baru aktivator yang berupa lumpur aktif Cocomas tersebut dimasukan kedalam keranjang. Setelah itu, tandan sawit yang telah dipotong halus ditambahkan kedalamnya dan diaduk bersama aktivator hingga homogen. Kemudian ditutup dengan sekam padi dibagian atasnya, dilanjutkan dengan penutupan bagian atas keranjang.

Tabel 1: Perbandingan jumlah Tandan Kelapa Sawit dan Aktivator yang digunakan dalam pembuatan kompos

Activator : Tandan Kelapa Sawit	Berat Aktivator (Kg)	Berat Tandan Kelapa Sawit (Kg)
1 : 1	2,50	2,50
1 : 2	1,67	3,33
1 : 3	1,25	3,75
1 : 4	1,00	4,00
1 : 5	0,83	4,17

Pengadukan dilakukan setiap hari bersamaan dengan pengukuran suhu dan juga pengontrolan kadar air. Kompos dapat dipanen setelah

14 minggu. Kemudian hasil panen kompos tersebut diayak untuk memisahkan antara kompos yang matang dengan kompos yang belum matang skema kerjanya dapat dilihat pada Lampiran 1. Jumlah kompos yang lolos dari ayakan merupakan kompos yang telah matang dan dapat digunakan untuk analisa selanjutnya.

2.2.3 Penentuan pH

Masing-masing kompos tandan sawit dengan perbandingan yang telah dibuat dimasukkan kedalam beberapa erlenmeyer dan juga aktivator slude cocomas masing-masing sebanyak 10 gram, ditambah 50 mL akuabides. Aduk dengan *shaker* selama 30 menit. pH kompos dan aktivator diukur dengan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 7,0 dan pH 4,0.

2.2.4 Penentuan Fe dan Zn dengan Metoda SSA

2.2.4.1 Destruksi Sampel

Kompos yang telah diayak didestruksi terlebih dahulu sebelum diukur dengan SSA. Sampel berupa kompos diambil masing-masingnya 0,5 gram dan dimasukan ke dalam labu Kjeldahl. Tambahkan 5 mL HNO₃ dan 0,5 mL HClO₄, kocok dan biarkan selama 2 - 3 jam. Panaskan pada *block digester* mulai dengan suhu 100°C, setelah uap kuning habis suhu dinaikkan hingga 200°C. Destruksi diakhiri bila sudah keluar uap putih dan cairan dalam labu tersisa sekitar 0,5 mL. Dinginkan dan encerkan dengan akuabides dan volume ditepatkan menjadi 50 mL, kocok hingga homogen, disaring dengan kertas saring W-41 agar didapat ekstrak jernih (ekstrak A) seperti terlihat pada Lampiran 2.

2.2.4.2 Pengukuran Fe

Pipet 5 mL ekstrak A dan encerkan sampai tanda batas dalam labu ukur 50 mL. Ukur absorban dengan SSA, lakukan juga pengukuran larutan standar. Kandungan Fe dihitung berdasarkan persamaan garis regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi standar seperti pada Lampiran 8.

2.2.4.3 Pengukuran Zn

Ekstrak A dari hasil destruksi diukur absorbannya dengan SSA, lakukan juga pengukuran larutan standar. Kandungan Zn dihitung berdasarkan persamaan garis regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi standar seperti pada Lampiran 8.

2.2.5 Penentuan Kadar N-organik

2.2.5.1 Penetapan N-organik

Sampel yang berupa kompos yang telah diayak diambil masing-masingnya 0,25 gram dimasukkan kedalam labu kjedahl. Kemudian tambahkan 0,25 - 0,50 gram selenium mixture dan 3 mL H₂SO₄ pa , kocok hingga campuran merata dan biarkan 2 - 3 jam. Didestruksi sampai sempurna dengan suhu bertahap dari 150°C hingga akhirnya suhu maks 350°C dan diperoleh cairan jernih. Setelah dingin, diencerkan dengan sedikit akuabides agar tidak mengkristal. Pindahkan larutan secara kuantitatif ke dalam labu destilasi volume 250 mL, tambahkan akuabides hingga setengah volume labu didih dan sedikit batu didih. Siapkan penampung destilat yaitu 10 mL asam borat 1 % dalam erlenmeyer volume 100 mL yang dibubuhi 3 tetes indikator conway. Destilasikan dengan menambahkan 20 mL NaOH 40%. Destilasi selesai bila volume cairan dalam Erlenmeyer sudah mencapai sekitar 75 mL. Destilat dititrasi dengan H₂SO₄ 0,05 N, hingga titik akhir (warna larutan berubah dari hijau menjadi merah jambu muda).

% N-organik dan N-NH₄ =

$$(A \text{ mL} - A1 \text{ mL}) \times 0,05 \text{ N} \times 14 \text{ g/mol} \\ \frac{1}{\text{mg contoh}} \times \text{fk} \times 100\%$$

2.2.5.2 Penetapan N-NH₄

Sampel yang berupa kompos yang telah diayak diambil masing-masingnya 1,000 gram dimasukkan kedalam labu destilasi, kemudian tambahkan sedikit batu didih, 0,5 mL parafin cair dan 100 mL akuabides. Blanko yang digunakan adalah 100 mL akuabides ditambah batu didih dan parafin cair. Siapkan penampung destilat yaitu 10 mL asam borat 1% dalam erlenmeyer 100

mL yang dibubuhi tiga tetes indikator Conway. Setelah itu, destilasi dengan menambahkan 10 mL NaOH 40%. Destilasi selesai bila volume cairan dalam erlenmeyer sudah mencapai sekitar 75 mL. Destilat dititrasi dengan larutan baku H₂SO₄ 0,05 N, hingga titik akhir (warna larutan berubah dari hijau menjadi merah jambu muda).

$$\% \text{ N-NH}_4 = (B \text{ mL} - B1 \text{ mL}) \times 0,05 \text{ N} \times 14 \\ \text{g/mol} \frac{1}{\text{mg contoh}} \times \text{fk} \times 100\%$$

Untuk perhitungan kadar N-organik dihitung berdasarkan perhitungan

$$\% \text{ N-organik} = \% \text{ N-organik dan N-NH}_4 - \% \text{ N-NH}_4$$

III. Hasil dan Pembahasan

Aktivator sangat mempengaruhi proses pengomposan karena mengandung mikroorganisme yang berperan dalam proses perombakan bahan organik. Aktivator yang digunakan pada proses pengomposan ini yaitu lumpur aktif cocomas yang mengandung bakteri SGB 301 dan 302⁽¹⁴⁾. Pengomposan dilakukan dengan memvariasikan berat aktivator dan tandan kelapa sawit. Waktu yang dibutuhkan untuk proses pengomposan yaitu 14 minggu. Dari kompos yang dihasilkan saat kompos matang mempunyai bentuk fisik yang sama untuk tiap variasi banyak campuran. Warna dari kompos tiap variasi adalah coklat kehitaman, tidak berbau busuk atau baunya adalah bau tanah, sedikit berserat halus.

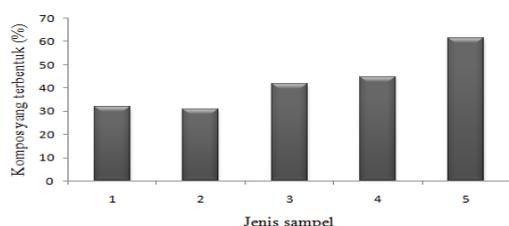
Lama proses pengomposan sangat dipengaruhi oleh jenis mikroorganisme dekomposer dan bahan dasar yang digunakan. Beberapa bakteri lipolitik seperti *Proteus Vulgaris*, *Bacillus Coagulans*, dan *Acinebacter Baumani* yang terdapat di dalam limbah cair kelapa sawit dapat membantu proses pengomposan tandan kelapa sawit yang membutuhkan waktu selama 10 minggu. Dimana bakteri tersebut memiliki kemampuan hidrolisis lemak yang sangat tinggi.

Sedangkan dalam tadan kelapa sawit sebagai bahan dasar kompos mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang sangat tinggi sehingga menyulitkan mikroorganismenya untuk mendekomposisi senyawa tersebut.

Tabel 2. Data Jumlah Kompos yang Terbentuk.

Aktivator : Tandan kelapa sawit	Berat kompos		Kompos yang terbentuk (%)
	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	
1 : 1	1910	610	31,94 %
1 : 2	4530	1400	30,91 %
1 : 3	3840	1610	41,93 %
1 : 4	4410	1970	44,67 %
1 : 5	3680	2260	61,41 %

Kompos yang dihasilkan mengalami pengusutan dari berat awal pengomposan, dimana berat awal proses pengomposan yaitu 5 kg. Pada proses dekomposisi tandan kelapa sawit terjadi pemecahan polimer primer anhidroglukosa menjadi molekul sederhana yang menghasilkan oligosakarida, disakarida, maupun monomer glukosa atau produk-produk seperti asam-asam organik maupun alkohol⁽¹³⁾. Dari perombakan tersebut terjadilah pepadatan struktur bahan, hilangnya pori-pori dan vakuola penyimpanan air dan udara sehingga bahan yang dikomposkan mengalami penyusutan berat. Bahan organik tanaman segar umumnya memiliki volume yang besar dan akan menjadi rendah atau menyusut setelah mengalami dekomposisi.



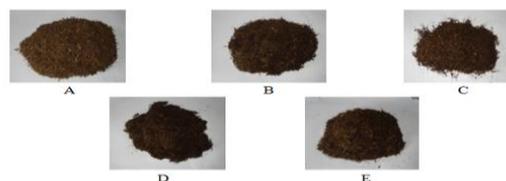
Gambar 1. Jumlah kompos yang dihasilkan.
 1. Kompos 1:1; 2. Kompos 1:2;
 3. Kompos 1:3; 4. Kompos 1:4;
 5. Kompos 1:5

Pada Gambar terlihat bahwa banyak kompos yang terbentuk dipengaruhi oleh variasi banyak aktivator dan tandan kelapa sawit. Jumlah kompos matang yang

terbanyak adalah kompos dengan perbandingan aktivator dan tandan kelapa sawit 1:5 yaitu 61,41% dan yang paling sedikit adalah kompos dengan perbandingan aktivator dan tandan kelapa sawit 1:2 yaitu 30,91%. Perbedaan kompos yang terbentuk dapat diakibatkan oleh kurang diperhatikannya faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengomposan seperti kadar air, suhu, lama pengadukan pada setiap komposisi kompos yang dibuat.

3.1 Warna dan bau kompos

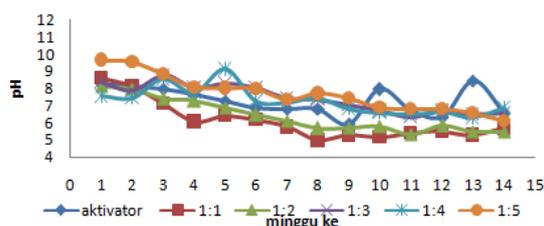
Kompos yang telah matang dapat diamati dari perubahan fisiknya yaitu warna dan bau. Pengamatan dilakukan secara visual dengan menggunakan peralatan yang sederhana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kompos yang dihasilkan dengan menggunakan aktivator lumpur aktif cocomas dan tandan kelapa sawit telah matang mempunyai bau yang sama seperti tanah, karena materi yang dikandungnya sudah menyerupai materi tanah dan berwarna coklat kehitam-hitaman akibat pengaruh bahan organik yang sudah stabil, sementara bau kompos sudah seperti tanah. Hal ini sesuai dengan standar SNI 19-7030-2004.



Gambar 2. Kompos yang dihasilkan dari tandan kelapa sawit menggunakan aktivator lumpur aktif cocomas dengan komposisi perbandingan aktivator dengan tandan kelapa sawit a) 1:1, b) 1:2, c) 1:3, d) 1:4 dan e) 1:5

3.2 Perubahan pH pada Proses Pembuatan Kompos

Pengukuran pH dilakukan setiap minggu mulai minggu pertama sampai kompos matang pada kondisi ruangan. Dengan lima perbandingan yaitu perbandingan antara aktivator lumpur aktif cocomas dan tandan kelapa sawit yaitu 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 dan 1:5.



Gambar 3. Pengaruh waktu proses pengomposan terhadap pH kompos menggunakan aktivator lumpur aktif PT Bumi Sarimas Indonesia.

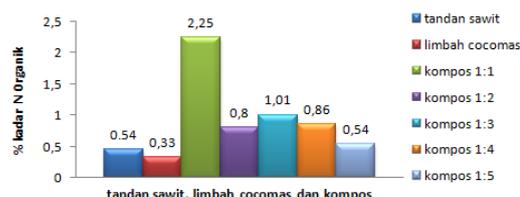
Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui apakah pH selama proses pengomposan terlalu rendah atau terlalu tinggi. pH yang terlalu tinggi ataupun terlalu rendah dapat mempengaruhi proses pengomposan. Proses pelepasan asam, secara temporer atau lokal pada pengomposan, akan menyebabkan penurunan pH (pengasaman), sedangkan produksi amonia dari senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen akan meningkatkan pH pada fase-fase awal pengomposan. pH yang ideal untuk proses pengomposan yaitu berkisar antara 6.5 sampai 7.5 Berdasarkan syarat mutu kompos dari sampah organik SNI 19-7030-2004, pH kompos yaitu sekitar 6,8 - 7,49. Dari Gambar 4 di atas, terlihat bahwa pada kompos yang menggunakan aktivator lumpur aktif PT Bumi Sarimas Indonesia terjadi peningkatan pH pada fase awal pengomposan. Hal ini karena pada proses pengomposan terjadi produksi ammonia sehingga pH meningkat.

3.3 Penentuan Kadar N-organik

Pengaruh perbandingan aktivator lumpur aktif PT Bumi Sarimas Indonesia dan tandan kelapa sawit terhadap % kadar N-organik dapat dilihat pada Gambar 5

Dari Gambar di atas terlihat bahwa terjadi peningkatan kadar N-organik untuk kompos dengan perlakuan penambahan aktivator lumpur aktif cocomas 1:1 yaitu sebesar 2,25% sedangkan jumlah paling kecil terdapat pada kompos dengan

perbandingan 1:2 yaitu sebesar 0,8%. Perbedaan ini disebabkan karena adanya proses dekomposisi oleh mikroorganisme yang menghasilkan ammonia dan nitrogen yang terperangkap dalam tumpukan kompos sehingga ammonia dan nitrogen yang bersifat volatil akan terlepas ke udara dalam jumlah sedikit .



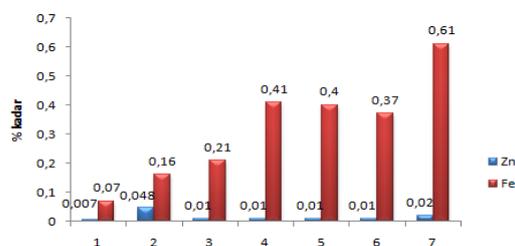
Gambar 4. % kadar N-organik dalam kompos yang dihasilkan

Pada Gambar terlihat penurunan %N yang dihasilkan pada kompos dengan perbandingan 1:2. Seharusnya pada perbandingan ini %N yang dihasilkan lebih besar dari kompos dengan perbandingan 1:3 - 1:5. Hal ini mungkin di sebabkan oleh beberapa faktor diantaranya kadar air dan suhu. Kecilnya kadar air membuat mikroorganisme tidak bekerja dengan baik, karena sebagian besar mikroorganisme yang dibutuhkan dalam proses pengomposan ini bekerja baik pada suasana lembab, artinya kadar air tinggi.

Diantara kelima perbandingan kompos tandan kelapa sawit dengan aktivator lumpur aktif cocomas yang dilakukan mempunyai kandungan N-Organik yang rata-rata melebihi dari syarat SNI-7030-2004 yaitu minimal 0,4%.

3.4 Kandungan Logam Fe dan Zn dalam Kompos

Pada penelitian ini dianalisis kandungan unsur hara mikro berupa Fe dan Zn. Kandungan total unsur logam pada aktivator lumpur aktif cocomas, tandan sawit dan pada kompos dengan kelima perbandingan dapat dilihat pada Gambar 6



Gambar 5. % Fe dan Zn kompos yang telah di buat selama 14 minggu. 1.tandan sawit, 2.cocomas, 3.Kompos 1:1, 4.Kompos 1:2, 5.Kompos 1:3, 6.Kompos 1:4, 5.Kompos 1:5

Dari Gambar 6 dapat dilihat bahwa kandungan total unsur hara mikro (Fe dan Zn) berbeda-beda pada setiap perbandingan kompos, lumpur aktif cocomas dan juga pada tandan kelapa sawit. Kompos pada 1:5 memiliki kandungan unsur hara Fe yang paling banyak yaitu sebesar 0,61%, sedangkan kandungan Fe yang terendah terdapat pada kompos 1:1 yaitu sebesar 0,21%. Namun, secara keseluruhan kandungan Fe dalam kompos tandan sawit dan lumpur aktif cocomas dibawah batas maksimal 2,0%. Hal ini berarti kandungan logam Fe yang terdapat dalam kompos tersebut masih dalam standar SNI 19-7030-2004. Pengukuran unsur hara mikro Fe dilakukan karena Fe merupakan unsur yang penting bagi tanaman yang mempunyai fungsi pelaksana pemindahan elektron dalam proses metabolisme dan jika tanaman kekurangan Fe akan mengakibatkan pengurangan aktivitas semua enzim.

Selanjutnya untuk kandungan Zn-total yakni yang tertinggi terdapat pada kompos dengan perbandingan 1:5 sebesar 0,02%. Secara keseluruhan kandungan Zn dalam kompos tandan kelapa sawit dan lumpur aktif cocomas dibawah batas maksimal 0,05% (500mg/kg). Hal ini berarti kandungan logam Zn yang terdapat dalam kompos tersebut masih dalam standar SNI 19-7030-2004.

IV. Kesimpulan

Penggunaan aktivator lumpur aktif cocomas dapat membantu proses perombakan terbentuknya kompos dengan bahan dasar tandan kosong kelapa sawit. Kompos yang dibuat dari tandan kelapa sawit dengan menggunakan aktivator lumpur aktif cocomas mempunyai warna dan bau seperti tanah, persentase kandungan unsur hara mikro Fe dan Zn dalam kompos ini lebih rendah dari standar SNI. Namun derajat keasaman (pH) dan kandungan N-organik dalam kompos yang dihasilkan dari tandan kelapa sawit dan lumpur aktif cocomas ada yang melebihi standar SNI. Kompos dengan kelima perbandingan antara tandan sawit dan aktivator lumpur aktif PT Bumi Sarimas Indonesia yang telah dibuat adalah paling bagus dengan perbandingan 1:1 (kadar Fe 0,21% , Zn 0,01% dan N-organik 2,25%).

V. Ucapan terima kasih

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

Referensi

- Supadma, A. A. N, dan Arthagama, D.M, **2008**, Uji Formulasi Kualitas Pupuk Kompos Yang Bersumber dari Sampah Organik Dengan Penambahan Limbah Ternak Ayam, Sapi, Babi Dan Tanaman Pahitan. *Jurnal Bumi Lestari*, Vol. 8 No. 2, hal. 113-121
- Yunindanova, B. M., **2008**, DKK. Tingkat kematangan kompos tandan kosong sawit dan penggunaan berbagai mulsa terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman tomat (*lycopersicon esculentum mill.*) Dan cabai (*capsicum annuum l.*), *Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB*.
- Agamuthu, P., **2001**, *Solid Waste Principles And Management*, Malaysia case studi.
- Darnoko, Z., Poeloengan, dan I. Anas, **1993**, *Pembuatan Pupuk Organik dari*

- Tandan Kosong Kelapa Sawit, *Buletin Penelitian Kelapa Sawit*, Vol 2, 89-99
5. Happy, Widiastuti dan Tri, Panji, **2007**, Pemanfaatan Tandan Kosong Kelapa Sawit Sisa Jamur Merang (*Volvariella volvacea*) (TKSJ) Sebagai Pupuk Organik pada Pembibitan Kelapa Sawit, *Menara Perkebunan*. 2, 70-79.
 6. Khopkar, M. S., **1990**, Konsep Dasar Kimia Analitik, Terjemahan A. Sapturahardjo, UI Press, Jakarta.

EKSTRAKSI DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA ANTOSIANIN DARI DAUN MIANA (*Coleus scutellarioides* L (Benth.)) SERTA APLIKASI PADA MINUMAN

Yuniar Hardiyanti, Djaswir Darwis, 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

Anthocyanins have been extracted from Miana leaves (*Coleus scutellarioides* L (Benth)) by using methanol that was acidified with HCl (pH 1) and citric acid (pH 1.79) with total content equal to 820.894 mg / L and 923.181 mg / L . Anthocyanin extract was identified by UV-Vis spectroscopy in λ_{\max} range 250-700 nm, and possibility of a compound of anthocyanin extract was pelargonidin 3-rutinosida (HCl + methanol extract) which absorbs in λ_{\max} range 279.96 - 508,25 nm and cyanidins 3- O-glycosides λ_{\max} absorb in range 278.00 - 520.50 nm. Anthocyanin was stable at pH 1-3, in which the pH variation of anthocyanin compounds that used to change the color and structure of the atmosphere was neutral or alkaline. The influence of temperature was causing degradation of the anthocyanin compounds. The highest antioxidant activity in methanol was acidified by HCl extract was 84.64% with IC₅₀ values was 0.02% (w / v).

Keywords: anthocyanin, natural dye, antioxidant, *Coleus scutellarioides* L (Benth)

I. Pendahuluan

Antosianin telah banyak digunakan sebagai pewarna khususnya minuman. Karena Senyawa ini merupakan sekelompok zat warna kemerahan yang larut dalam air dan tersebar luas pada tumbuhan. Oleh karena itu dapat digunakan sebagai pewarna alami yang tersebar luas dalam tumbuhan. Menurut JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin mempunyai efek toksisitas yang rendah, dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner, resiko stroke, aktivitas antikarsinogen, efek anti-inflamatory, memperbaiki ketajaman mata dan memperbaiki perilaku kognitif.^[1-2]

Antosianin banyak terdapat dalam buah, bunga, dan daun yang memberikan warna merah sampai biru. Salah satu tumbuhan

yang diduga mengandung antosianin adalah tumbuhan Miana (*Coleus scutellarioides* L (Benth)). Tanaman Miana berkembang di Indonesia sebagai tanaman hias, tanaman ini tergolong famili Lamiaceae.^[3-4]

Antosianin seperti pigmen alami lainnya memiliki tingkat kestabilan yang rendah. Dapat terurai selama proses ekstraksi, pemurnian, dan selama penyimpanan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan dari antosianin ini adalah pH, suhu, cahaya dan tipe pelarut. Antosianin stabil memberikan warna merah orange pada pH rendah, sedangkan dalam suasana basa antosianin berwarna biru-ungu atau kadang-kadang kuning. ^[5-8]

II. Metodologi Penelitian

2.1. *Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi*
 Bahan-bahan yang digunakan adalah daun tumbuhan Miana segar yang diambil secara random, dan bahan kimia berupa pelarut organik seperti metanol (CH₃OH), akuades (H₂O), dan bahan kimia lainnya seperti natrium hidroksida (NaOH), kalium klorida (KCl), asam asetat (CH₃COOH) glasial, CH₃COONH₄, asam sitrat, kalium dihidrogen posfat (KH₂PO₄), asam klorida (HCl) pekat, logam Magnesium (Mg), FeCl₃, anhidrida asetat, H₂SO₄ pekat, klorofom, dan pereaksi Meyer, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Vitamin C (asam askorbat). Alat yang digunakan adalah Rotary Evaporator merek Reidolph, spektrofotometer UV-VIS Thermo Scientific series, lampu UV 254 nm dan 365 nm, pH meter Metrohm 827 pH Lab series, waterbath, plat KLT.

2.2. Prosedur penelitian

Sampel daun diperoleh dari Daerah Limau Manis Kampus Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat. Sampel diekstrak menggunakan pelarut metanol yang diasamkan dengan HCl dan asam sitrat hingga tercapai kondisi pH 1 dan 1,79 selama semalam, kemudian ekstrak dipisahkan dengan rotary evaporator.

Senyawa antosianin dianalisa dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 250 - 700 nm dan dibandingkan dengan data yang terdapat pada literatur.

Dari spektrum UV-Vis hasil pengukuran di variasikan pH nya yaitu pH 1, pH 3, pH 5, pH 7, dan pH 9 untuk tiap-tiap ekstrak. Selanjutnya sampel dengan pH 1 divariasikan suhunya yaitu 30°C, 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C. Tiap - tiap variasi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 250 - 700 nm.

Penentuan kadar total monomer antosianin dan kadar total antosianin dalam sampel dihitung dengan menggunakan metoda

diferensial pH.^[9] Uji antioksidan dilakukan dengan Metode DPPH.^[10]

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil uji fitokimia

Hasil pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun Miana dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Profil Fitokimia Daun Miana (*Coleus scutellarioides L (Benth)*)

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	Saponin	Air	Ada busa	-
5	Steroid	Liebermann-Burchard	Warna hijau	-
6	triterpenoid	Liebermann-Burchard	Warna merah	+

Keterangan : (+) = ada
 (-) = tidak ada

Dari data di atas dapat diketahui bahwa buah dari tumbuhan Miana mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, dan triterpenoid sementara untuk saponin, steroid, dan alkaloid memberikan hasil uji yang negatif.

3.2. Hasil ekstraksi senyawa antosianin

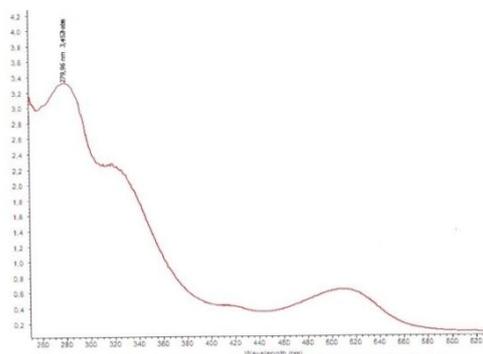
Hasil maserasi dan pemekatan dari ekstrak daun Miana didapatkan kadar total antosianin dari ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl 820,984 mg/L, sedangkan pada ekstrak metanol yang diasamkan dengan asam sitrat sebesar 923,181 mg/L dan warna dari masing - masing ekstrak adalah merah dengan kepekatan yang berbeda.

Dari hasil dapat dilihat kandungan tertinggi total antosianin terdapat dalam sistem pelarut metanol yang diasamkan dengan asam sitrat, hal ini berarti senyawa antosianin yang terkandung dalam daun Miana memiliki kepolaran yang hampir

sama dengan metanol sehingga lebih banyak terekstrak dengan menggunakan pelarut metanol, dan kemudian jenis asam juga mempengaruhi kestabilan antosianin, dimana antosianin daun Miana lebih stabil dalam kondisi asam menggunakan asam organik yaitu asam sitrat, karena kemungkinan penggunaan asam yang kuat memungkinkan hidrolisis glikosida antosianin yang menyebabkan tidak stabilnya antosianin.

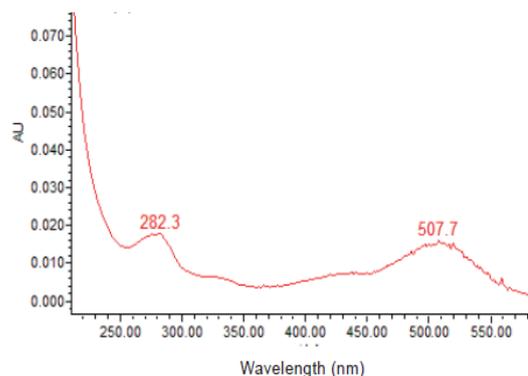
3.3 Analisa Antosianin dengan Spektrofotometer UV-Vis

Dari hasil pengukuran ke dua ekstrak daun Miana yaitu ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl didapatkan puncak dengan daerah panjang gelombang yaitu pada UV λ_{maks} 279,96 nm sebagai gugus gula (glikon) dan pada daerah Visibel mempunyai kisaran λ_{maks} 508,25 nm sebagai gugus antosianidin (aglikon).



Gambar 1. Bentuk spektrum UV-Vis ekstrak daun Miana dengan pelarut metanol-HCl

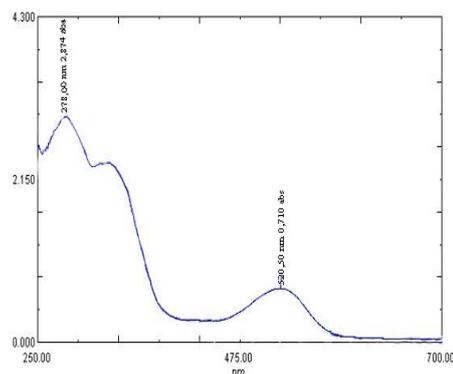
Pada jurnal Qin C dkk (2010), melaporkan adanya pelargonidin 3-O-rutinosida yang diekstrak dari buah *mulberry* yang mengidentifikasi λ_{maks} pada daerah visible 507,7 nm.



Gambar 2. Puncak pelargonidin pada buah Mulberry

Dari perbandingan spektrum UV-Vis tersebut diperkirakan senyawa antosianin yang terkandung pada ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl daun Miana adalah pelargonidin 3-O-rutinosida, karena memiliki λ_{maks} yang berdekatan dengan antosianin pada buah *mulberry*.

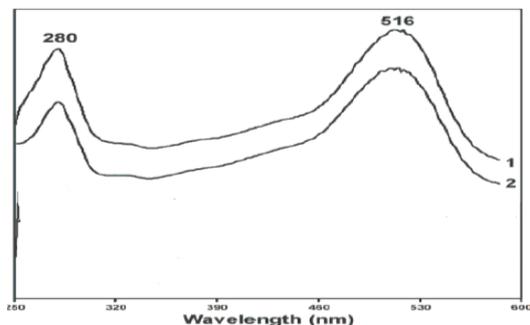
Pada pengukuran ekstrak metanol yang diasamkan dengan asam sitrat didapatkan puncak dengan daerah panjang gelombang yaitu pada UV λ_{maks} 278,00 nm sebagai gugus gula (glikon) dan pada daerah Visibel mempunyai kisaran λ_{maks} 520,50 nm sebagai gugus antosianidin (aglikon).



Gambar 3. Bentuk spektrum UV-Vis ekstrak daun Miana dengan pelarut metanol-sitrat

Dengan membandingkan penelitian yang dilakukan oleh Stephen S.Hecht, dkk tahun 2006, melaporkan adanya sianidin-3-O-glukosida yang diekstrak pada buah *black*

raspberries yang mengidentifikasi λ_{maks} pada daerah visibelnya adalah 516 nm.

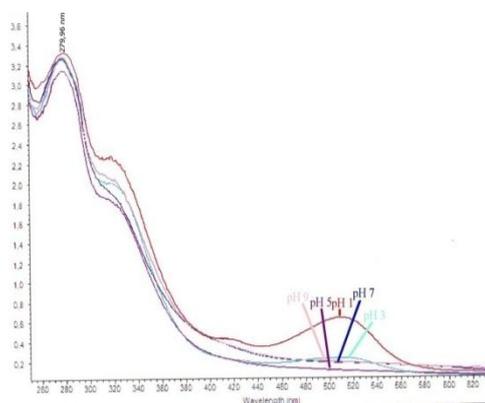


Gambar 4. Spektrum fraksi etanol buah *black raspberries* (1), dan standar sianidin-3-O glukosida (2).

Dari perbandingan tersebut dapat diperkirakan senyawa antosianin yang terkandung dalam ekstrak metanol yang diasamkan dengan asam sitrat daun Miana adalah sianidin-3-O-glukosida, karena memiliki λ_{maks} nya yang sama dengan antosianin pada buah *black raspberries*.

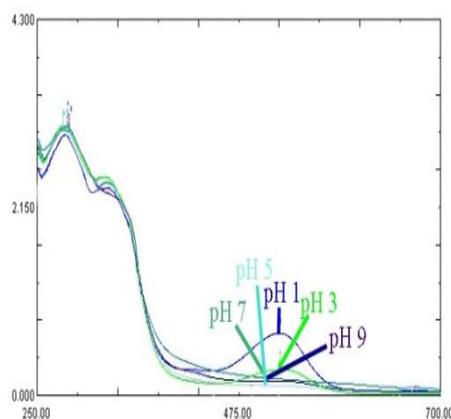
3.4 Analisa terhadap perlakuan pH

Perubahan warna pada antosianin dalam tingkatan pH tertentu disebabkan sifat antosianin yang memiliki tingkat kestabilan yang berbeda. Pada kisaran pH 1-3 tersebut antosianin berada dalam bentuk ion oxonium (I) atau garam flavilium yang stabil. Bentuk tersebut dapat mengalami hidrolisis dengan meningkatnya pH membentuk pseudobasa yang mulai kehilangan warna pada rentang pH 4-6, kemudian bentuk pseudobasa ini mengalami tautomerik, keseimbangan antara bentuk keto dan bentuk enol menghasilkan alfa diketon, dan pada pH diatas 7 akan membentuk basa kuinoidal yang berwarna biru.^[9]



Gambar 5. Perubahan bentuk spektrum UV-Vis variasi pH pelarut metanol-HCl

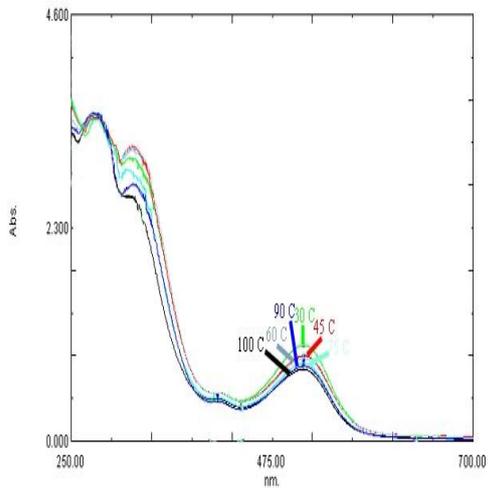
Berikut merupakan spektrum senyawa antosianin pada daun Miana karena adanya perubahan pada berbagai tingkatan pH (1, 3, 5, 7, 9).



Gambar 6. Perubahan bentuk spektrum UV-Vis variasi pH pelarut metanol-asam sitrat

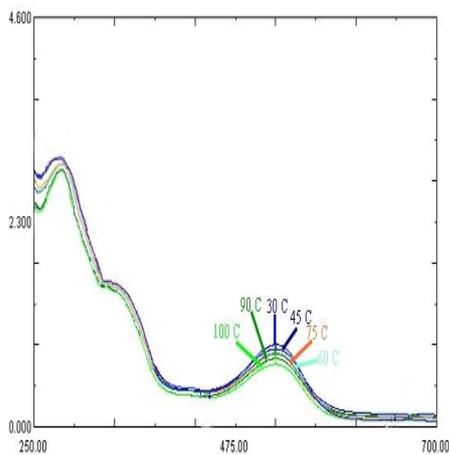
3.5 Analisa terhadap perlakuan suhu

Suhu berpengaruh terhadap kestabilan warna dari antosianin, semakin meningkatnya suhu pemanasan dapat mengakibatkan hilangnya glikosil pada antosianin akibat hidrolisis ikatan glikosidik. Aglikon yang dihasilkan kurang stabil dan menyebabkan berkurangnya intensitas warna dari antosianin seiring dengan meningkatnya derajat pemanasan.



Gambar 7. Spektrum UV-Vis variasi temperatur pelarut metanol-HCl

Dalam penelitian ini dilakukan pengujian terhadap kedua jenis ekstrak dengan perlakuan terhadap pH 1 dengan pemanasan pada variasi suhu 30°C, 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C yang kemudian dianalisa dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis. Spektrum pengaruh suhu terhadap serapan antiosianin dari ekstrak daun Miana dapat dilihat pada gambar di bawah ini.

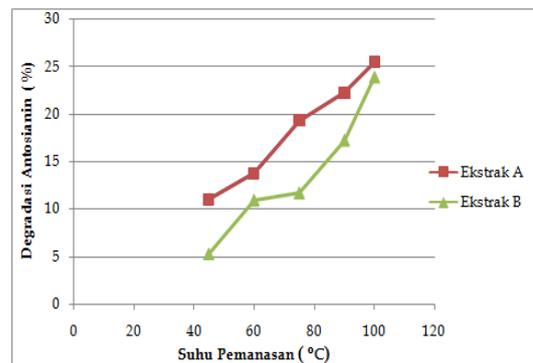


Gambar 8. Spektrum UV-Vis variasi temperatur metanol-asam sitrat

Pengukuran absorbansi dari ekstrak pengaruh pemanasan dapat dilihat serapan menurun dengan meningkatnya suhu pemanasan, dimana serapan pada λ_{maks}

visibel mengalami penurunan intensitas serapan, hal ini berarti kestabilan antiosianin yaitu kestabilan dari kation flavilium dari aglikon menurun, dimana kemungkinan terjadinya stimulasi aglikon-aglikon hasil hidrolisis yang mudah mengalami transformasi menjadi senyawa kalkon.

Berikut merupakan kurva hubungan suhu pemanasan terhadap persen degradasi antiosianin tiap - tiap ekstrak



Gambar 9. Kurva hubungan suhu pemanasan dengan persen degradasi senyawa antiosianin pada tiap tiap ekstrak.

Dari kurva dapat dilihat, dengan kenaikan suhu pada kedua ekstrak antiosianin tidak terjadi perubahan ataupun kerusakan. Hal ini diidentifikasi berdasarkan nilai λ_{max} (nm) masih berada pada rentang senyawa antiosianin yaitu pada daerah UV 270-280 dan Vis 465-560 nm.^[11] Untuk masing - masing ekstrak λ_{max} (nm) masih berada dalam rentang panjang gelombang untuk senyawa turunan pelargonidin (507-513 nm) dan sianidin (516-520 nm). Akan tetapi, terjadi perubahan sedikit panjang gelombang antara suhu yang satu dengan yang lainnya. Perubahan panjang gelombang ini berdasarkan literatur disebabkan karena terjadinya hidrolisis ikatan glikosida pada antiosianin dan terbentuknya struktur intermediet dari antiosianin karena pengaruh suhu tersebut.^[12]

3.6 Uji antioksidan antosianin

Kemampuan menghambat radikal bebas paling tinggi dari antosianin yang terkandung dalam kedua ekstrak tersebut adalah dari ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl yaitu 84,64 %. Dapat disimpulkan bahwa senyawa antosianin yang bersifat penangkap radikal bebas lebih banyak terdapat dalam ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl dibandingkan dengan ekstrak metanol yang diasamkan dengan asam sitrat.

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH.^[13] Didapatkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl yaitu pada konsentrasi 0,02 % (b/v), dan untuk Vitamin C yaitu 0,023 % (b/v). Dari nilai IC₅₀ tersebut dapat dilihat bahwa daya hambat ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl lebih besar dibandingkan dengan Vitamin C, ini berarti konsentrasi dari ekstrak metanol yang diasamkan dengan HCl lebih sedikit daripada Vitamin C untuk menghambat radikal bebas pada daya hambat 50%.

3.7 Aplikasi

Untuk pengujian aplikasi ekstrak antosianin diambil sampelnya yaitu larutan penyegar dengan pH 5 dan dua jenis minuman penambah energi dengan pH 3. Didapatkan bahwa pH dari larutan penyegar dan minuman penambah energi setelah ditambahkan ekstrak antosianin dari daun Miana adalah pH 3 dan pH 1 dengan warna larutan merah.

IV. Kesimpulan

Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak methanol yang diasamkan dengan asam sitrat merupakan paling bagus. Senyawa antosianin yang didapat kemungkinan adalah senyawa pelargonidin-3-rutinosida dan sianidin-3-O-glukosida yang stabil pada pH 1-3 dan relatif stabil terhadap perubahan suhu.

Ekstrak daun Miana bersifat sebagai antioksidan.

V. Ucapan terima kasih

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

Referensi

1. Passamonti, S., Vrhovsek, U., Vanzo, A., & Mattivi, F., **2003**, The stomach as a site for anthocyanins absorption from food. *FEBS Letters*, 544, 210-213
2. Deman, J.M., **1989**, Kimia Makanan Edisi Kedua (terjemahan) K. Padmawinata, *ITB Press*
3. Rahmawati, F., **2008**, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth), *Tesis pascasarjana IPB*, Hal 3
4. Rodic, B., Cytomorphological Aspects of Ergasticmaterials in Some Magnoliatae and Liliatae Species, *Jurnal of Ovidius University*, 184 - 187
5. Ramos, L.A, Lupetti, K. O., Carvalho, F. T., and Filho, O. F., **2000**, Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum nigrum* L. no ensino de química. *Eclética Química (Brasil)*, 25:110-120
6. Belitz, H.D dan Grosch, W., **1999**, *Food Chemistry, 2nd Edition, Springer*
7. Eskin, M., **1979**, Plant Pigment, Flavors and Texture, *Academic Presss.*
8. Ma, C., and Yang, L., **2012**, Content and Color Stability of Anthocyanins Isolated from *Schisandra chinensis* Fruit, *Molecular Sciences*
9. Giusti, M. M., and Wrolstad, R. E., **2001**, Characterization and Measurement of UNIT F1.2 (anthocyanin) Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy, *Food Analytical Chemistry*. Hal 6-11
10. Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T., and Ono, M., **2001**, Modification Method "DPPH 92-2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radical Scavenging Activity Of Flavonoids Obtained From Some Medical Plants. *Bio. Pharm.*, Hal 23-26

11. Rao, C.N.R., **1975**, Ultraviolet and Visible, Spectroscopy Chemical Application, *3th Edition*
12. Rein, M., **2005**, Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins, Academic Dissertation, *University of Helsinki*
13. Mintowati, K.E, dan Dewi A.M., **2010**, Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr), *Sains dan Terapan Kimia* Vol. 4 No. 1.. FMIPA UNLAM. Hal 18-19
14. Boer, Y., **2000**, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq), *Jurnal Matematika dan IPA* 1, (1) hal 26-33

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN BAMBU (*Dendrocalamus asper*)

Muha Miko Imarta Yanda, Hazli Nurdin, dan Adlis Santoni

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail:

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation of phenolic compound and antioxidant test of leaves of Bamboo (*Dendrocalamus asper*) have been carried out. The bamboo leaves was blended and extracted with methanol where after the solvent was evaporated the yellow residu was obtained continued with column chromatography for the isolation of tcompound of residu, to get pure phenolic was done by recrystalization The isolate is a solid and yellow which range of melting point at 228.2 – 230.1 °C that give single spot at some comparable eluent in TLC test. In the phenolic identification test of the isolate gave blue color. The Isolate then has been identified based on melting point test, UV-Vis Spectroscopy and Infra Red Spectroscopy. The UV spectrum showed absorption maximal at 205 and 251 nm. The IR spectrum displayed characteristic absorption bands at 3443.28 cm⁻¹, 3016.12 cm⁻¹, 2828.1 cm⁻¹, 1679.69 cm⁻¹, 1600.63 cm⁻¹, 1421.28 cm⁻¹, 1321 cm⁻¹, 1166.72 cm⁻¹, 1110.8 cm⁻¹, and 771.9 cm⁻¹. The date indicated that the obtained compound is of phenolic. In addition, the antioxidant test for each other extract gave the percent of inhibition for methanol extract 91.52%, ethyl acetate 68.90 %, and hexane 24,25 %.

Keywords: *Dendrocalamus asper*, Phenolic, antioxidant

I. Pendahuluan

Tanaman bambu termasuk ke dalam famili Gramineae, sub family Bambusoideae, ordo Graminales dan kelas Monokotil.¹ Di dunia diketahui ada 1250 jenis bambu yang berasal dari 75 marga. Sedangkan di Indonesia tumbuh berbagai macam bambu yang tersebar di seluruh daerah, ada sekitar 143 jenis bambu yang telah diketahui sifat dan jenisnya

Di Indonesia sendiri dikenal ada 10 genus bambu, antara lain: *Arundinaria*, *Bambusa*, *Dendrocalamus*, *Dinochloa*, *Gigantochloa*, *Melocanna*, *Nastus*, *Phyllostachys*, *Schizostachyum*, dan *Thyrsostachys*. Bambu tergolong keluarga Gramineae (rumput-rumputan) disebut juga Giant Grass (rumput raksasa), berumpun dan terdiri dari sejumlah batang (buluh) yang tumbuh secara bertahap, dari mulai rebung, batang

muda dan sudah dewasa pada umur 3-4 tahun. Batang bambu berbentuk silindris, berbuku-buku, beruas-ruas, berongga, ber dinding keras, pada setiap buku terdapat mata tunas atau cabang.²

Daun bambu didalam pengobatan tradisional dapat dimanfaatkan untuk mengobati demam panas pada anak-anak. Hal ini disebabkan karena daun bambu mengandung zat yang bersifat mendinginkan.²

Hasil fitokimia dari daun *Dendrocalamus asper* diketahui senyawa yang terkandung didalamnya adalah flavonoid, kumarin dan fenolik. Pada genus *Dendrocalamus* dilaporkan mengandung senyawa kumarin, flavonoid, antrakuinon, polisakarida, fenolik dan asam amino.^{6,7}

Daun bambu juga telah dilaporkan mengandung golongan senyawa fenolik. Golongan senyawa fenolik merupakan komponen aktif dari tumbuhan yang telah digunakan untuk mengobati beberapa penyakit dan digunakan dalam bidang farmasi untuk antioksidan, anabolik, dan antiinflamasi. Berdasarkan pengujian tersebut serta kandungan senyawa aktif yang telah dilaporkan, maka penelitian ini difokuskan untuk mengisolasi salah satu metabolit sekunder yaitu fenolik.

Penelitian ini dilakukan dengan metoda ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut heksana, etil asetat (EtOAc), dan metanol, pemisahan dan pemurnian komponen kimia dengan kromatografi, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*) 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serta karakterisasi senyawa dengan melakukan pemeriksaan secara konvensional dan spektrofotometri.

II. Metodologi Penelitian

2.1. *Bahan Kimia, Peralatan dan Instrumentasi*
Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *Rotary Evaporator Heidolph WB 2000*, *spektrofotometer UV-1700 Series* dan *FTIR (Fourier Transform Infrared) Perkin Elmer 1600 series*, *Fisher melting point apparatus*, lampu UV $\lambda = 254$ dan 365 nm, kolom kromatografi, penangas listrik, oven, kertas saring, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), alumunium foil, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.³

Sampel yang digunakan berupa daun Bambu (*Dendrocalamus asper*) yang di ambil di Desa Koto Laweh, Kec. X Koto, Kab. Tanah Datar. Bahan kimia berupa pelarut organik seperti Metanol (CH₃OH) teknis yang didistilasi, Etil Asetat (C₂H₅COOH) teknis yang didistilasi, n-heksana (C₆H₁₄) teknis didistilasi, dan bahan kimia lainnya seperti asam sulfat pekat (H₂SO₄), Feri Klorida (FeCl₃), aquadest, DPPH dan silika gel 60 Art. 7733.

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1. Ekstraksi dan Isolasi

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi daun Bambu yang telah dikeringkan (1,5 kg) dimaserasi menggunakan pelarut metanol (5 x 1,5 L) masing-masing selama 5 hari pada suhu kamar. Setelah itu disaring dan didapatkan ekstrak metanol dan ampas. Ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak metanol. Kemudian ekstrak metanol difraksinasi dengan menggunakan pelarut heksana, setelah didapatkan fraksi heksana berupa ekstrak pekat, lalu fraksi metanol difraksinasi kembali menggunakan pelarut etilasetat dan didapatkan ekstrak pekat fraksi etil asetat.

Pemisahan fraksi etilasetat yang didapat dilakukan menggunakan kolom kromatografi yang bertujuan untuk menyederhanakan pemisahan komponen metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel. Pengelusian dilakukan secara bergradient dimulai dari pelarut 100% n-heksana sampai dengan 100% etilasetat sebagai fasa gerak, fasa diam menggunakan silika gel sebanyak 90 gram, dan ekstrak pekat etil asetat sebanyak 3 gram. Setelah dilakukan kromatografi kolom didapatkan 296 vial kemudian dilakukan pengujian kromatografi lapisan tipis untuk mengetahui pola pemisahan dan jumlah komponen yang terdapat pada masing-masing vial.

Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan cara tirturasi yaitu pada vial 109-130 dikerenakan pada fraksi tersebut setelah dilakukan KLT nodanya terpisah jauh. Pada vial 109-130 terdapat padatan yang sebelumnya pelarut sudah diuapkan terlebih dahulu. Vial 109-130 ditirturasi dengan menggunakan pelarut etilasetat sehingga terbentuk larutan berwarna kuning. Selanjutnya larutan ini ditambahkan dengan pelarut heksana secara tetes demi tetes sampai terbentuk 2

lapisan, kemudian dipisahkan lapisan atas yang berwarna bening ke vial lain, dan lapisan bawah berwarna kuning, kemudian lapisan bawah berwarna kuning tersebut diuji kemurniannya, yaitu dengan cara menggunakan KLT berbagai perbandingan eluen yang dilihat di bawah sinar UV. Selanjutnya senyawa yang didapat diidentifikasi dengan spektroskopi UV-Vis, inframerah (IR) dan Titik leleh.

2.2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

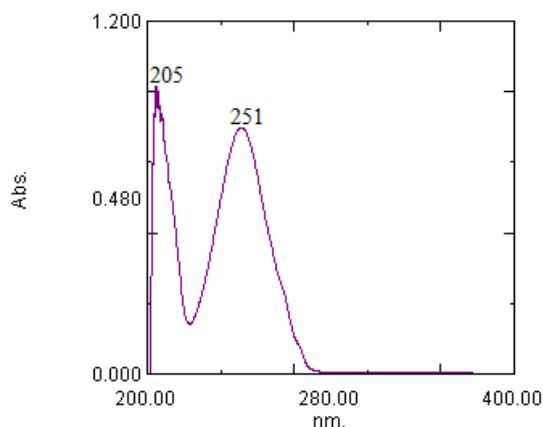
Pengujian aktifitas antioksidan ini dilakukan dengan menggunakan asam askorbat sebagai larutan standar.

Uji antioksidan dengan metoda peredaman DPPH dilakukan lebih lanjut dengan mengukur persen inhibisi dari reaksi peredaman ekstrak sampel terhadap radikal bebas DPPH dapat berlangsung. Pengukuran persen inhibisi dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur serapan dari masing-masing sampel yang sudah direaksikan dengan larutan standar DPPH 1 mM pada λ 516 nm. Sebagai standar digunakan larutan asam askorbat.

III. Hasil dan Pembahasan

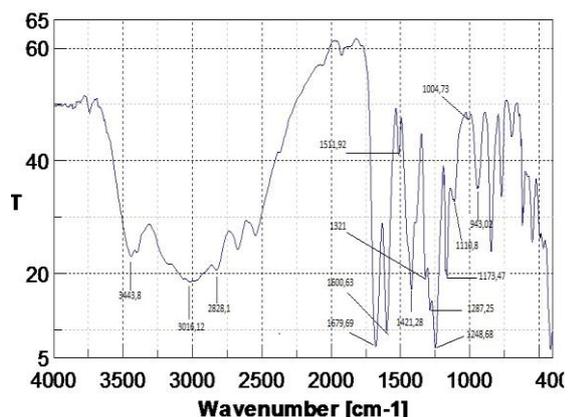
3.1. Analisis Hasil Karakterisasi

Diperoleh padatan kuning seberat 18 mg dari fraksi 109-130. Isolat yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan Titik leleh, spektroskopi UV-Vis, dan spektroskopi IR. Dari pengukuran titik leleh isolate memberikan rentang titik leleh dari 228.2°C - 230.1°C Data spektroskopi (UV-Vis dan IR) untuk senyawa isolat dijelaskan sebagai berikut. Hasil pengukuran spektrum UV-Vis isolat dapat dilihat pada Gambar 1 menunjukkan adanya serapan pada daerah panjang gelombang maksimum 205 nm dan 251 nm. menunjukkan adanya ikatan rangkap berkonjugasi (*conjugated double bond*).⁴



Gambar 1. Spektrum UV dari senyawa hasil isolasi

Spektrum inframerah senyawa hasil pemurnian memberikan interpretasi data yaitu beberapa pita serapan penting pada daerah bilangan gelombang 3443,28 cm^{-1} , menunjukkan adanya OH karboksilat, daerah bilangan gelombang 3016,12 cm^{-1} menunjukkan adanya C-H aromatis yang didukung oleh C-H aromatis keluar bidang pada bilangan gelombang 771,39 cm^{-1} , daerah bilangan gelombang 2828,1 cm^{-1} menunjukkan adanya CH_2 metilen, daerah bilangan gelombang 1679,69 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $\text{C}=\text{O}$ karbonil, daerah bilangan gelombang 1600,63 cm^{-1} menunjukkan adanya $\text{C}=\text{C}$ aromatis, daerah bilangan gelombang 1421,28 cm^{-1} menunjukkan adanya $=\text{C}-\text{H}$ keluar bidang, daerah bilangan gelombang 1321 cm^{-1} menunjukkan adanya CH_3 , daerah bilangan gelombang 1166,72 cm^{-1} menunjukkan adanya C-O alkoksi. Adanya puncak OH jenuh yang ditunjukkan oleh bilangan gelombang 1110,8 cm^{-1} .⁵



Gambar 2. Spektrum inframerah isolat

3.2. Uji Antioksidan dari Ekstrak Daun Bambu (*Dendrocalamus asper*)

Uji antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dimana pengujian antioksidan pada ekstrak metanol, n-heksan, dan EtOAc. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm karena panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum dari DPPH.

Dari hasil uji antioksidan dari ketiga ekstrak yang diperoleh, ekstrak metanol memperlihatkan sifat inhibisi yang lebih baik dibandingkan dari ekstrak lain. Hal ini terjadi karena ekstrak metanol yang diperoleh mempunyai kadar senyawa fenolik yang cukup besar dibandingkan ekstrak lainnya. Kebanyakan senyawa antioksidan merupakan senyawa fenolik. Hal ini terbukti melalui uji positif senyawa fenolik terhadap ekstrak metanol dengan pereaksi $FeCl_3$ 1 % yang ditandai dengan terbentuknya warna biru pada ekstrak metanol.

Dari data diatas dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, EtOAc, dan heksana, berturut-turut mempunyai persen inhibisi sebesar 91,52 %, 68,90 %, 24,25 %. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Bambu (*Dendrocalamus asper*) mempunyai respon yang besar terhadap penghambatan radikal bebas.

Tabel 1. Hasil uji aktifitas antioksidan ekstrak metanol, heksana, dan EtOAc dengan metode penangkapan radikal DPPH.

No	Larutan	Inhibisi (%)
1.	Ekstrak Metanol	91,52
2.	Ekstrak EtOAc	68,90
3.	Ekstrak heksana	24,25
4.	Vitamin C	95,74

IV. Kesimpulan

Dari uji fenolik terhadap senyawa hasil isolasi memberikan pengamatan warna biru pekat dengan penambahan $FeCl_3$ yang menandakan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa fenolik, dimana senyawa hasil pemurnian ini terdekomposisi pada suhu 228,2 °C dan memberikan noda tunggal dengan berbagai perbandingan eluen setelah dilihat di bawah sinar UV.

Dari fraksi metanol, etil asetat dan heksan dari daun *Dendrocalamus asper*, fraksi metanol memiliki respon yang paling aktif terhadap perendaman radikal DPPH dengan nilai % inhibisi = 91,52%.

V. Ucapan terima kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada analis laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Andalas beserta staff yang telah menyediakan fasilitas dalam berlangsungnya penelitian ini.

Referensi

1. Qisheng Z, Shenxue J, Yongyu T., 2001, Physical properties of bamboo material, *Industrial Utilization On Bamboo Technical Report*, No.26
2. Basri, E., 1997, Pedoman Teknis Pengeringan Bambu . Laporan Proyek Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Pusat. Pusat Penelitian Hasil Hutan dan Sosial Ekonomi Kehutanan. Bogor.
3. Ibrahim, S., Teknik Laboratorium Kimia Organik. Pasca Sarjana *Universitas Andalas*

4. Silverstein, R M., G. C., Bassler, and T.C. Morrill, **1981**, Spectrometric Identification of Organic Compounds, *John Wiley and Sons*, 4th Ed., hal,136-140, 306-311.,.
5. Sastrohamidjojo, dan Hardjono, **1992**, Spektroskopi Infra Merah, *FMIPA UGM*, Edisi I, Liberti, Yogyakarta, hal, 17-42.
6. Lwin, K. M., Han, Y. Y., Maung, W., Moe, A. K. Z., Than, S. B. M., **2007**, An investigation on morphology, anatomy and chemical properties of some Myanmar bamboos.
7. Zhang Y, Wu X.Q. and Yu Z.Y., **2002**, Activity of the leaves of bamboo, *Phyllostachys nigra*, and *Ginkgo biloba*, *China Journal of Chinese Meteria Medica* 27 (4): 254–257.

FERMENTASI ANAEROBIK LIMBAH KULIT SINGKONG DAN KOTORAN KELINCI UNTUK PRODUKSI BIOGAS

Aelita^a, Abdi Dharma^a, Bustanul Arifin^b

^aLaboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^bLaboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: abdi11750@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Analysis of biogas made from cassava peel and rabbit droppings has been conducted. Biogas production was prepared with a variety of reactant comparisons which then its water content, the content ratio of carbon, and nitrogen, were analyzed and especially for organic carbon was analyzed by *Walkley & Black* method as for nitrogen was by *Kjeldahl* method. From the analysis it can be found that cassava peel mixing and rabbit droppings takes 50 days and produce biogas volume for each comparison where for the ratio of 1:1, 3:1 and 4:1 producing 2.683 L, 1.982 L and 1.860 L, respectively. It can be concluded that the mixture of cassava peel and rabbit droppings in the ratio of 1:1 showed best condition for biogas production with the methane content of 60%.

Keywords: biogas, anarobic fermentatioan, cassava peel

I. Pendahuluan

Salah satu penyebab kenaikan harga minyak dunia yang signifikan disebabkan oleh kelangkaan bahan bakar minyak tersebut, hal ini telah mendorong pemerintah untuk mengajak masyarakat mengatasi masalah energi secara bersama-sama. Semakin tingginya harga bahan bakar, terutama gas dan bahan bakar minyak untuk kebutuhan rumah tangga semakin meresahkan masyarakat. Selain mahal, bahan bakar tersebut juga semakin langka di pasaran. Usaha untuk mengatasi hal-hal tersebut mendorong pemikiran akan perlunya pencarian sumber-sumber energi alternatif, agar kebutuhan bahan bakar dapat dipenuhi tanpa merusak lingkungan.¹

Kandungan biogas di dominasi oleh gas metana (CH₄) yang merupakan hasil sampingan dari proses biodegradasi bahan organik, seperti: kotoran ternak, kotoran

manusia, sampah organik, dan 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 bagi tanaman dan kehidupan didalam air (*aqua kultur*), mencegah lalat, dan bau tidak sedap yang berarti juga ikut mencegah sumber penyakit.²

Produksi gas metana dari biomassa bukan merupakan proses yang baru. Secara prinsip pembuatan biogas sangat sederhana, dengan memasukkan substrat (kotoran hewan atau limbah organik) kedalam unit pencernaan (digester), ditutup rapat, dan selama periode tertentu biogas akan terbentuk yang selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi.^{3,4}

Selain pemanfaatan kotoran ternak sebagai sumber energi biogas, bahan lain yang

dapat dimanfaatkan adalah sisa-sisa limbah organik padat, seperti : sampah yang dihasilkan dari rumah tangga, pasar, perusahaan (pabrik) dan tempat-tempat lain. Misalnya pada perusahaan pengolahan keripik singkong kota Padang dan sekitarnya, terkenal dengan oleh-oleh khas berupa keripik Balado (keripik singkong). Perusahaan pengelola tersebut membiarkan limbah (kisaran 35 % dari setiap proses produksinya) menjadi tumpukan sampah yang tidak berharga. Padahal kalau dilihat dari produksinya, perusahaan tersebut dapat memanfaatkan limbah itu sebagai sumber alternatif.

Untuk mewujudkan dan merealisasikan pengolahan limbah tersebut menjadi biogas, maka diperlukan penelitian untuk memproduksi biogas yang memanfaatkan kulit singkong. Kulit singkong yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini diperoleh dari perusahaan Keripik Balado Mahkota, Padang. Adanya penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif dalam mengatasi permasalahan limbah dan juga dapat menghasilkan energi alternatif yang ramah lingkungan.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Alat yang digunakan antara lain: jerigen (ukuran 20 L), selang, corong, mortar, timbangan, pengaduk, Erlenmeyer, aluminium foil, labu semprot, labu Kjedahl, pipet takar, labu ukur, botol vial, dan Spektrofotometer UV/Vis (Shimadzu UV-1700 Spectronic).

Bahan yang digunakan antara lain: kotoran kelinci, limbah kulit singkong, H_2SO_4 pekat, Selenium mixture, akuades, NaOH, Asam Borat, indikator *conway*, HCl, akuabides, $K_2Cr_2O_7$, kertas saring, glukosa.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Persiapan Sampel

Kulit singkong dipisahkan dari bagian hitam dan putih kemerahan, (kulit singkong yang dipakai disini adalah kulit singkong yang putih kemerahan) dan dibersihkan,

kemudian di tumbuk. Begitupun dengan kotoran kelinci, sebelum dimasukkan kedalam digester, ditumbuk atau dihaluskan dahulu. Kulit singkong di ambil di Perusahaan Keripik Balado Mahkota Jln. Asra No 21, Tunggul Hitam, Padang. Sementara kotoran kelinci diperoleh di Peternakan seorang warga Kayu Aro, Kerinci, Jambi.

2.2.2. Pembuatan Starter

Starter berfungsi untuk menumbuhkan bakteri metanogen yang diinginkan pada pembentukan biogas ini, starter dibuat dengan perbandingan 1:1,5 antara kotoran sapi dan air, artinya 1 kg kotoran sapi ditambahkan 1,5 kg air dan dimasukkan kedalam jerigen, aduk hingga homogen lalu ditutup rapat dan dibiarkan secara anaerobik selama 12 hari.⁵

2.2.3. Pembuatan Variasi Campuran

Variasi campuran dilakukan untuk melihat kondisi optimum pembentukan biogas, campuran dibuat dalam jerigen 20 L, dan diisi setengah dari volume jerigen tersebut. Campuran terdiri kulit singkong, kotoran kelinci, starter dan air. dengan perbandingan (1:1), (3:1), dan (4:1).

- Pada perbandingan 1:1, digester diisi 2,5 kg limbah kulit singkong + 2,5 kg kotoran kelinci + 2,5 L kotoran sapi, dan + 2,5 L air
- Perbandingan 3:1 diisi 3,75 kg limbah kulit singkong + 1,25 kg kotoran kelinci + 2,5 L kotoran sapi, dan + 2,5 L air.
- Perbandingan 4:1 diisi 4 kg limbah kulit singkong + 1 kg kotoran kelinci + 2,5 L kotoran sapi, dan + 2,5 L air.

2.2.3. Analisis Sampel

2.2.3.1. Analisis Kadar Air

Analisis Kadar Air dilakukan dengan metoda gravimetri.

2.2.3.2. Penentuan C-Organik

Analisis C-Organik dilakukan dengan metoda *Walkley and Black*.

2.2.3.3. Penetapan N-Total

Analisis penentuan N-Total dilakukan dengan metoda Makro Kjeldhal.

2.2.4. Pembentukan Biogas

Variasi campuran yang telah dibuat masing-masingnya dimasukkan ke dalam jerigen 20 L. Jerigen ditutup dengan penutup yang telah dilengkapi dengan kran dan pentil yang dihubungkan dengan selang karet dan balon penampung gas. Setiap sambungan diberi selotip agar tidak ada kemungkinan gas akan keluar. Biarkan fermentasi berlangsung, dalam penelitian ini fermentasi dilakukan selama 50 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan. Gas yang terbentuk akan terlihat pada balon penampung. Gas yang terbentuk ini diukur volumenya.

2.2.5. Pemisahan CO₂

Komposisi biogas terdiri dari bermacam-macam gas, tetapi kadar gas yang paling tinggi didalam biogas adalah metan dan CO₂. Maka, untuk mengetahui volume metan yang telah terbentuk pada balon penampung gas harus dilakukan pemisahan terhadap CO₂ dengan menggunakan larutan NaOH. Dari pemisahan ini, akan didapatkan kadar metan.⁶

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Rasio C/N campuran kulit singkong dengan kotoran kelinci

Table 1. Rasio C/N pada Campuran

No	KS : KK	C/N
1	1 : 1*	30,68
2	3 : 1*	23,32
3	4 : 1*	22,60

Ket : * = perbandingan campuran kulit singkong (KS) : kotoran Kelinci (KK)

1 : 1 = 2.5 KS : 2.5 KK

3 : 1 = 3.75 KS : 1.25 KK

4 : 1 = 4 KS : 1 KK

Carbon dan nitrogen adalah sumber makanan utama bagi bakteri anaerob, untuk dapat tumbuh dan berkembang dengan

baik, dimana carbon dibutuhkan untuk mensuplai energi dan nitrogen yang dibutuhkan untuk membentuk struktur sel bakteri. Rasio C/N adalah besaran yang menyatakan perbandingan jumlah atom karbon dibagi dengan atom nitrogen. Di dalam reaktor terdapat populasi mikroba yang memerlukan karbon dan nitrogen. Apabila nitrogen tidak tersedia dengan cukup, maka mikroba tidak dapat memproduksi enzim yang berguna untuk mencerna karbon. Apabila nitrogen terlalu banyak maka pertumbuhan mikroba akan terganggu.⁷

Dari hasil yang diperoleh, dapat dilihat rasio C/N campuran masing-masing perbandingan dapat dilihat bahwa rasio C/N paling tinggi adalah pada percampuran 1:1 yaitu sebesar 30.68, diikuti campuran perbandingan 3:1 dan 4:1 yaitu sebesar 23,32 dan 22,60. Berarti percampuran 1:1 mencapai angka optimum dalam perbandingan rasio C/N yaitu 30:1. Pada penelitian oleh Uzodinma dan Ofoefule (2009) pada pembuatan biogas dengan kulit singkong dan beberapa kotoran hewan, produksi terbanyak adalah pada perbandingan 1:1 yang memiliki nilai C/N optimum, semakin tinggi konsentrasi campuran maka perbandingan C/Nnya akan semakin kecil, begitu juga dengan hasilnya, semakin rendah nilai C/N yang didapat maka hasil produksi biogas akan semakin rendah, begitu sebaliknya.

Pada perbandingan 1:1 komposisi kulit singkong dan kotoran beberapa kotoran hewan sebanding, sehingga kotoran hewan di harapkan mampu meningkatkan energi untuk produksi biogas, artinya bakteri yang ada pada kotoran mampu mendegradasi lignin yang terkandung dalam kulit singkong. Lignin susah untuk terdegradasi, sehingga menghambat proses pembentukan biogas.¹

3.2. Volume produksi biogas

Tabel 2. Perbandingan Volume dalam Produksi Biogas

No	KS : KK	Produksi Biogas (L)
1	1 : 1	2,683
2	3 : 1	1,982
3	4 : 1	1,860

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian didapatkan volume gas yang bervariasi yaitu berkisar antara 1,860 L sampai 2,683 L. Bervariasinya volume gas ini disebabkan berbedanya jumlah dari komponen yang ada dalam campuran sesuai dengan perbandingan masing-masing.

Lamanya proses fermentasi yang dilakukan dalam penelitian ini sekitar 50 hari. Pada hari ke-10 produksi biogas dapat dilihat dengan merapatkan balon, pada perbandingan 1:1 dihasilkan balon yang berisi biogas lebih banyak dari perbandingan yang lain. Produksi biogas yang maksimal dapat dilihat pada perbandingan 1:1 yaitu sebesar 2,683 L.

Pada penelitian oleh Uzodinma dan Ofoefule (2009) tentang produksi biogas dari rumput lapangan dan beberapa limbah kotoran hewan diantaranya kotoran kelinci, hasil yang paling banyak dalam memproduksi biogas adalah pada perbandingan 1:1. Pada perbandingan 3:1 dan 4:1 produksi yang dihasilkan relative rendah, ini dimungkinkan karena komposisi pada campuran perbandingan tersebut, yang mendominasi adalah rumput lapangan, sehingga bakteri yang diharapkan mampu mendegradasi lignin yang terdapat didalam rumput lapangan kurang efektif, karena jumlahnya yang tidak sesuai. Sehingga hasil yang didapatkan untuk produksi biogasnya rendah.⁴

3.3. Volume Biogas

Tabel 3. Kandungan gas CO₂ dan CH₄ dalam Biogas

No	KS :KK	Volume CO ₂ Terserap (mL)	Volume Biogas tanpa CO ₂ (mL)	Kadar CO ₂ (%)	Kadar CH ₄ (%)
1	1:1	12	18	40	60
2	3 : 1	13,5	16,5	45	55
3	4 : 1	17	13	56,67	43,44

Dari 30 ml biogas yang diambil dan dilakukan pemisahan CO₂, maka didapatkan volume biogas tanpa CO₂ dan volume CO₂. 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 4:1, bakteri methanogen kurang aktif bekerja, sehingga menyebabkan hasil kandungan CO₂ lebih tinggi dibandingkan kandungan metan. Hal ini dapat disebabkan karena terjadinya kebocoran pada instalsi digester sehingga menyebabkan terakumulasinya O₂ menjadi CO₂.

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.⁸

Reaksi kimia yang terjadi adalah inereversible, 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

IV. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kulit singkong dapat dijadikan substrak pada proses produksi biogas. Kotoran kelinci dapat digunakan sebagai peningkat energi produksi biogas. Produksi biogas yang dibuat dari kulit singkong dan kotoran kelinci menunjukkan hasil yang baik adalah pada perbandingan 1:1, yang memiliki kandungan C organik 11,66 %, nitrogen 0,38 % dan rasio C/N 30,68. Volume yang didapat adalah 2,683 L dengan kadar metan 60 %.

V. Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada para analis serta teknisi laboratorium Bioteknologi dan laboratorium Terapan Jurusan Kimia FMIPA UNAND dan Laboratorium Kimia Kopertis Wilayah X, selanjutnya pada semua pihak yang telah memberi semangat dan motivasi, terima kasih atas partisipasinya.

Referensi:

1. Uzodinma, E. O., and Ofoefule, A. U. **2009**, Biogas production from blends of field grass (*panicum maximum*) with some animal wastes, *of physical sciences*, 4, 091-095.
2. Parawira, W., **2004**, *Anaerobic Treatment of Agricultural Residues and Wastewater*. Lund University, Sweden.
3. Fairus, S. S., **2011**, In *Pemanfaatan Sampah Organik Secara Padu Menjadi Alternatif Energi : Biogas dan Precursor Briket*, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Yogyakarta, 22 Februari 2011; Yogyakarta.
4. Uzodinma, E. O.; Ofoefule, A. U., **2009**, Biogas production from blends of casavva field (*manihot ultissima*) with some animal wastes. *of physical sciences*.
5. Sirirote, P., **2009**, In *The Production of Biogas from Cassava Tubers*. KMITL Sci. Tech. J. *Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thailand*.
6. Budiyono and Kusworo T. D., **2012**, In *Microalgae for Stabilizing Biogas Production from Cassava Starch Wastewater*. *of Waste Resources*.
7. Chalprasert, P., **2011**, *Biogas Production from Agricultural Wastes in Thailand*. *Sustainable Energy and Environment*, 63-65.
8. Kubaska, M., **2010**, food waste as biodegradable substrates for biogas production. In *37th international conference of SSCHE*, Tatranske Matliare, Slovakia.
9. Arvanitoyannis IS, Tserkezou P., **2008**, Corn and rice waste: a comparative and critical presentation of methods and current potential uses of treated wastes. *Int. J. Food Sci. Tech.* 46 (6): 958 - 988.
10. Arvanitoyannis I. S., Tserkezou P., **2008**, Wheat, Barley and Oat waste: a comparative and critical presentation of methods and potential uses of treated waste. *Int. J. Food Sci. Tech.* 43 (4): 694 - 725.
11. Eze J. I., **1995**, *Studies on generation of biogas from poultry droppings and rice husk from a locally fabricated biodigester*. M.Sc. dissertation, University of Nigeria, Nsukka, pp. 64-65.

FERMENTASI ANAEROB DARI SAMPAH PASAR UNTUK PEMBENTUKAN BIOGAS

Desy Rahmayanti, Abdi Dharma, dan Marniati Salim

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: abdi11750@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

This work was to study an anaerobic fermentation for biogas production. Biogas is a kind of renewable energy which can be resulted by anaerobic fermentation process. This research was used by kind's of ratio between market waste's and cow dung, namely 50 : 50; 70 : 30 and 80 : 20. The function of this process to affect the market waste's and cow dung ratio for the resulting biogas. The highest result was obtained from 50 : 50 ratio with biogas and methane gas content were respectively about 3.154 L and 65.67%. It was satisfied with optimum condition content of C/N ratio about 26.643.

Keywords: *biogas, organic waste, anaerobic fermentation*

I. Pendahuluan

Bahan bakar minyak (BBM) merupakan sumber daya alam yang tidak bisa diperbaharui. Oleh karena itu ketersediaan BBM di alam semakin lama akan semakin berkurang. Sedangkan kebutuhan manusia terhadap BBM semakin meningkat seiring dengan pertumbuhan manusia. Sehingga BBM yang ada tidak bisa memenuhi setiap kebutuhan manusia.¹

Untuk mengatasi masalah tersebut dicarilah energi alternatif yang benar-benar bisa menggantikan bahan bakar minyak, salah satunya adalah biogas. Biogas adalah proses fermentasi (pembusukan) dari sampah organik secara anaerobik (tanpa udara) oleh bakteri metanogen sehingga dihasilkan gas metana. Gas metana yang dihasilkan kemudian dapat dibakar sehingga dihasilkan energi panas dan dapat digunakan sebagai bahan bakar.²

Biogas dapat dikatakan sebagai salah satu sumber energi alternatif yang ramah lingkungan dan terbarukan. Ramah lingkungan karena biogas merupakan salah

satu alternatif pengolahan limbah, khususnya limbah kotoran hewan. Limbah kotoran hewan yang tidak diolah dapat menimbulkan pencemaran bagi lingkungan sekitarnya. Terbarukan karena biogas merupakan sumber energi yang berasal dari kotoran hewan, tidak seperti minyak bumi yang merupakan sumber energi fosil yang tidak dapat diperbaharui. Biogas dikatakan sebagai sumber energi alternatif karena biogas dapat dimanfaatkan sebagai pengganti minyak tanah dan liquid petroleum gas (LPG).¹

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan dari sisa sayur-sayuran yang menghasilkan biogas sebesar 340-550 liter/kg TVS (Total Volatile Solid).³ Begitu juga dengan penelitian lain yang dilakukan dari bermacam-macam sisa sayuran dapat menghasilkan biogas, salah satu contoh dari sampah bayam menghasilkan CH₄ sebesar 0,316 m³/kg TVS ((Total Volatile Solid).⁴ Selain itu, penelitian yang telah dilakukan dari kotoran sapi menghasilkan gas metan sebesar 50-58%.⁵

Berdasarkan pada penelitian-penelitian tersebut maka pada penelitian ini digunakan sampah pasar yang berupa sisa sayur-sayuran untuk memproduksi biogas dengan menggunakan starter dari kotoran sapi.

Saat ini, sampah pasar dapat menimbulkan pencemaran bagi lingkungan. Jika sampah pasar ini diolah menjadi biogas, maka dua permasalahan akan sekaligus teratasi. Pertama, pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh sampah pasar ini akan teratasi. Kedua, sampah pasar yang diolah akan menghasilkan bahan bakar yang sangat dibutuhkan pada saat ini.⁶

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan kimia yang digunakan : Asam Sulfat (H_2SO_4) 95 % (Merck), Asam Klorida (HCl) 37 % (Merck), *Selenium Mixture* (Merck), Natrium Dioksida (NaOH) 40 % (Wako pure chemical industry), Asam Borat (H_3BO_3) 1 %, Kalium Dikromat ($K_2Cr_2O_7$) (Merck), Glukosa ($C_6H_{12}O_{22}$) (Merck), *Indikator Conway*.

Peralatan gelas yang dipakai : Erlenmeyer, kaca arloji, labu ukur, gelas piala, cawan penguap. Sedangkan Instrument yang dipakai adalah : desikator (Iwaki), Oven (Memmert), Neraca Analitik (Denver Instrument), Alat Destilasi, UV-VIS (T70 UV/VIS Spektrophotometer).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Persiapan Sampel

Sampel terdiri dari berbagai campuran sampah sayur-sayuran yang diambil dari pasar Bandar Buat. Sampel ini kemudian dibiarkan 1-2 hari agar sayur-sayuran itu layu dan membusuk

2.2.2 Pembuatan 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 kg. Starter dimasukkan ke dalam jerigen dan dibiarkan selama 1 minggu.

2.2.3 Pembuatan Variasi Campuran

Dalam penelitian ini dilakukan 3 variasi campuran sampah pasar (sampel) dan kotoran sapi (starter), yaitu dengan perbandingan 80 : 20, 70 : 30 dan 50 : 50. Digester yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerigen 20 L. Untuk pembuatan biogas ini jerigen hanya diisi sebanyak 10 kg, dengan isi 5 kg air dan 5 kg lagi diisi dengan campuran sampel dan kotoran sapi.

- Perbandingan 80 : 20 berisi 4 Kg sampel, 1 Kg starter dan 5 Kg air
- Perbandingan 70 : 30 berisi 3,5 Kg sampel, 1,5 Kg starter dan 5 Kg air
- Perbandingan 50 : 50 berisi 2,5 Kg sampel, 2,5 Kg starter dan 5 Kg air

2.2.4 Analisis Sampel

2.2.4.1 Penetapan C-Organik

Penetapan C-Organik sampel dan campuran dilakukan dengan menggunakan Metode *Walkley & Black*.⁷

2.2.4.2 Penetapan N Total

Penetapan N-Total sampel dan campuran dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldhal.⁷

2.2.4.3 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode gravimetri.

2.2.5 Pembentukan Biogas

Variasi campuran yang telah dibuat masing-masingnya dimasukkan ke dalam jerigen. Jerigen ditutup dengan penutup yang telah dilengkapi dengan kran dan pentil yang dihubungkan dengan selang karet dan balon penampung gas. Setiap sambungan diberi selotip agar tidak ada kemungkinan gas akan keluar. Fermentasi dibiarkan berlangsung sampai 40 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan. Gas yang terbentuk akan terlihat pada balon penampung. Gas yang terbentuk ini diukur volumenya.

2.2.6 Pemisahan CO_2

Pemisahan CO_2 menggunakan bejana U dengan prinsip penyerapan CO_2 oleh NaOH. Biogas diambil menggunakan syringe sebanyak 30 ml, kemudian dialirkan

ke dalam buret yang telah berisi larutan NaOH 20% dengan ketinggian yang sama. Volume gas yang kembali ke dalam syringe dicatat sebagai volume biogas tanpa CO₂.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Analisis Kadar Carbon (Walkley & Black)

Pada analisis kadar karbon sampah pasar dan campurannya dapat dilihat dari **tabel 1**.

Tabel 1. Nilai % kadar karbon pada sampel dan campuran

No.	Sampel : Starter (Kg)	Kadar C (%)
1	80 : 20	34,287
2	70 : 30	56,035
3	50 : 50	94,061

Pada Tabel 1, dapat kita lihat kadar C-Organik dari sampah pasar meningkat dengan adanya penambahan kotoran sapi. Pada variasi 80 : 20 didapatkan kadar C sebesar 34,287%, kemudian meningkat pada variasi 70 : 30 yaitu 56,035%. Kadar C terbesar terlihat pada variasi 50 : 50 yaitu 94,061%.

Adanya peningkatan pada kadar C setelah ditambahkan inokulum disebabkan karena pada inokulum yang bersumber dari feses sapi mengandung unsur karbon, dan dapat meningkatkan kadar karbon dari substrat.

3.2. Hasil Analisis Kadar Nitrogen

Pada analisis kadar nitrogen sampah pasar dan campurannya dapat dilihat dari **tabel 2**.

Tabel 2. Nilai % kadar nitrogen pada sampel dan campuran

No.	Sampel : Starter (Kg)	Kadar N (%)
1	80 : 20	1,836
2	70 : 30	2,175
3	50 : 50	3,530

Karbon dan Nitrogen adalah sumber makanan utama bagi bakteri anaerob, sehingga pertumbuhan optimum bakteri sangat dipengaruhi unsur ini, dimana karbon dibutuhkan untuk mensuplai energi dan nitrogen dibutuhkan untuk

memperbaiki sel bakteri. Untuk mencapai kondisi optimum maka perbandingan C dan N harus sesuai dengan kebutuhan bakteri tersebut.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa dengan adanya penambahan starter, kadar N dari ketiga variasi semakin meningkat. Kadar N tertinggi terdapat pada variasi campuran 50 : 50 yaitu 3,530%. Kadar nitrogen meningkat setelah dicampur antara substrat dan inokulum, hal ini karena pada inokulum juga terdapat nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme pada proses pembentukan biogas.

3.3 Analisis C/N Sampel dan Campuran

Setelah didapatkan kadar C dan N, maka bisa ditentukan ratio C/N dari sampel dan campuran yang dapat dilihat dari **tabel 3**.

Tabel 3. Kadar C/N Sampel dan Campuran

No.	Sampel : Starter (Kg)	Kadar C (%)	Kadar N (%)	C/N
1	80 : 20	34,287	1,836	18,675
2	70 : 30	56,035	2,175	25,763
3	50 : 50	94,061	3,530	26,643

Rasio C/N untuk memproduksi biogas agar tercapai kondisi optimum adalah sebesar 20 - 30.⁸ Dari sampah pasar didapatkan ratio C/N sebesar 15,251. Nilai ini masih jauh kurang untuk mencapai kondisi optimum produksi biogas. Pada penelitian ini dilakukan penambahan substrat, untuk memperbaiki ratio C/N sampel yang berada jauh dari rentang optimum untuk produksi biogas.

Pada campuran sampah pasar dengan starter dapat dilihat rasio C/N meningkat, hal ini terlihat pada perbandingan 80 : 20 dengan ratio C/N 18,675, kemudian meningkat pada perbandingan 70 : 30 yang mencapai 25,763 dan variasi 50 : 50 yang mempunyai ratio paling tinggi yaitu 26,643. Nilai rasio ini sudah mencapai rasio optimum untuk menghasilkan biogas.

Rasio C/N ini sangat penting dalam pembentukan biogas, karena bila sampel terlalu banyak mengandung C maka N akan

habis terlebih dahulu. Hal ini akan menyebabkan proses pembentukan gas berjalan lambat. Tetapi bila N terlalu banyak, maka C akan habis terlebih dahulu dan menyebabkan proses fermentasi berhenti. Imbangan C/N dari substrat yang digunakan juga harus diperhatikan. Jika ratio C/N rendah, nitrogen akan cepat habis karena dikonsumsi oleh mikroorganisme, sedangkan jika ratio C/N tinggi dapat menjadi racun bagi mikroorganisme perombak, karena nitrogen akan terakumulasi menjadi amoniak.⁹

3.4 Penentuan Kadar Air

Tabel 4. 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	0,398	92,043	12,568
70 : 30	5,002	0,297	94,062	16,841
50 : 50	5,005	0,231	95,384	21,645

Dari tabel kadar air dan faktor koreksi diatas dapat dilihat bahwa variasi sampel dengan perbandingan 50 : 50 mempunyai kadar air yang paling tinggi yaitu 95,384%, sehingga juga mempunyai faktor koreksi yang besar yaitu 21,645%. Kadar air yang terkandung dalam digester harus tepat karena air berperan penting dalam pembentukan biogas. Jika kadar air didalam biodigester ini tidak tepat dapat menyebabkan produksi biogas menurun, karena bakteri metan tidak mendapatkan suplai nutrisi yang cukup, dapat juga disebabkan karena adanya bakteri lain yang berkembang dalam biodigester. Dalam penelitian ini kadar air yang baik adalah pada perbandingan 50 : 50, karena pada perbandingan inilah terdapat produksi biogas terbanyak.

3.5 Pembentukan Biogas

Setelah dilakukan fermentasi anaerob selama 40 hari didapatkanlah produksi biogas yang dapat dilihat ada **tabel 5**.

Tabel 5. Volume Produksi Biogas

No	Sampel : Starter (Kg)	Rasio C/N	Volume Biogas (L)
1	80 : 20	18,675	1,506
2	70 : 30	25,763	2,791
3	50 : 50	26,643	3,154

Dari Tabel 5 dapat kita lihat bahwa volume biogas yang paling besar adalah digester dengan perbandingan 50 : 50 yaitu sebesar 3.154 L. Hal ini disebabkan karena pada perbandingan ini penambahan inokulumnya paling banyak, dimana pada inokulum inilah terdapat bakteri penghasil metan. Sehingga juga menghasilkan biogas yang paling banyak.

Lama fermentasi yang dilakukan dalam penelitian ini sekitar 40 hari. Pada hari ke-10 produksi biogas sudah mulai dapat dilihat dengan adanya gas yang mengisi balon penampung gas. Hal ini menunjukkan proses fermentasi berlangsung. Pada perbandingan 50 : 50 dihasilkan balon yang berisi biogas lebih banyak dari perbandingan yang lain.

Rendahnya produksi biogas pada perbandingan 80 : 20 yaitu sebesar 1,506 L disebabkan karena sedikitnya penambahan inokulum yang menjadi sumber bakteri penghasil metan. Selain itu pada perbandingan 80 : 20 ini volume air didalam digester rendah, hal ini menyebabkan bakteri metan tidak dapat berkembang dengan baik. Begitu juga dengan perbandingan 70 : 30 yang menghasilkan biogas sebesar 2,791 L.

Jika terlalu rendah jumlah 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 kerak di dinding biodigester.¹⁰

3.6 Pemisahan CO₂

Tabel 6. Penyerapan CO₂ dalam Biogas

No	Sampel : Starter (Kg)	Volume Biogas tanpa CO ₂ (mL)	Volume CO ₂ Terserap (mL)
1	80 : 20	12,5	17,5
2	70 : 30	15,8	14,2
3	50 : 50	19,7	10,3

Biogas terbanyak pada penelitian ini didapatkan pada variasi 50 : 50 dengan kadar metan tertinggi yaitu sebesar 65,67 %. Hal ini juga didapatkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arthur Felix (2012) pada pembuatan biogas dari sampah sayuran yang menghasilkan produksi biogas terbanyak pada perbandingan 1 : 1.¹¹

Tabel 7. Kadar Metan

No	Sampel : Starter (Kg)	Kadar Biogas tanpa CH ₄ (%)	Kadar CH ₄ (%)
1	80 : 20	58,33	41,67
2	70 : 30	47,33	52,67
3	50 : 50	34,33	65,67

Perbandingan 50 : 50 ini menghasilkan biogas terbanyak karena pada perbandingan inilah komposisi bakteri penghasil metan dan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri pembentuk metan berada dalam jumlah yang seimbang. Pada variasi 80 : 20 lebih banyak menghasilkan CO₂ karena pada variasi ini sampah sayuran terhidrolisis dengan baik tetapi hanya sedikit yang mencapai tahap metanogenesis, sehingga kadar metan yang dihasilkan lebih sedikit dibanding kadar CO₂. Selain metana, kadar CO₂ didalam biogas juga cukup besar sehingga jika dilakukan uji nyala maka tidak akan menghasilkan warna nyala yang biru, tetapi berwarna kemerahan.

IV. Kesimpulan

Dari 3 variasi campuran yang telah dilakukan didapatkan hasil biogas terbanyak dari perbandingan sampah pasar dan kotoran sapi adalah 50 : 50 dengan rasio C/N 26,643 dan volume gas yang dihasilkan dari perbandingan ini yaitu 3,154 L, dengan kadar metan 65,67%.

V. Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada para analis dan teknisi laboratorium Bioteknologi Kimia FMIPA Universitas Andalas dan Laboratorium Kimia Kopertis Wilayah X.

Referensi

1. Chen, P., Overholt, A., Rutledge, B., and Tomic, J., **2010**, Economic Assessment of Biogas and Biomethane Production from Manure
2. Shehu, B., and Ismail, N., **2012**, Anaerobic Digestion of Cow Dung for Biogas roduction, *Journal Engineering and Applied Science*, 2, pp. 167-172
3. Arthur, R., and Brew-Hammond, A., **2010**, Potential Biogas Production from Sewage Sludge : A Case Study of the Sewage Treatment Plant at Kwame Nkrumah University of Science and Technology, *Journal Energy and Environment*, 1 (6), pp. 1009-1016
4. Singh, R., Mandal, S.K., and Jain, V.K., **2010**, Development of Mixed Inoculum for Methane Enriched Biogas Production, *Indian Journal Microbiol*, pp. S26-S33
5. Ntengwe, F.W., Njovu, L., Kasali, G., and Witika, L.K., **2010**, Production in Cone-Closed Floating-Dome Batch Digester Under Tropical Conditions. *Chemtech Research*, pp. 483-492
6. Fairus, S., Salafudin., Rahman, L., Apriani, E., **2011**, Pemanfaatan Sampah Organik Secara Padu Menjadi Alternatif Energi : Biogas dan Precursor Briket. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. Yogyakarta, 22 Februari 2011.
7. Sulaiman., Suparto., dan Eviati., **2005**, Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air dan Pupuk, *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*.
8. Guo, L. G., **2010**, Potential of Biogas Production from Livestock Manure in China, *Chalmers University of Technology*.
9. Lazuardy, I., **2004**, Rancang Bangun Alat Penghasil Biogas Model Terapung, *Universitas Sumatera Utara, Medan*.

10. Ilaboya, I.R., Asekhame, F.F., Ezugwu, M.O., Erameh, A.A., Omofuma, F.E., **2010**, Studies on Biogas Generation from Agricultural Waste ; Analysis of the Effect of Alkaline on Gas Generation. *World Applied Sciences Journal*, 9 (5), pp. 537-545.
11. Felix, A., Paramitha., Ikhsan, D., **2012**, Pembuatan Biogas dari Sampah Sayuran, *Teknologi Kimia dan Industri*, 1, pp. 103-108.

PRODUKSI BIOGAS DARI KOMBINASI LIMBAH CAIR PABRIK KELAPA SAWIT DAN SAMPAH SAWI HIJAU DALAM SISTEM BATCH

Yuliana Sastika, Abdi Dharma, dan Elida Mardiah

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: abdi11750@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Biogas production from Palm Oil Mill Effluent (POME) with addition of green mustard waste as co-substrate in batch system was investigated. This combination was based on increasing carbon to nitrogen ratio (C/N of substrate after the addition of green mustard waste. Biogas production was done by varying the volume of POME and green mustard with addition of effluent from cattle manure fermentation.

The addition of co-substrate improved C/N of POME from 46,94:1 to 23,94:1 and 29,13:1 respectively in the combination of LC:SW_{80:20} and LC: SW_{60:40}. Biogas production was related to biogas volume after 60 days fermentation. The results showed that LC:SW_{60:40} produces the most biogas, i.e 2.401004 L.

Keywords: biogas, co-substrate, POME

I. Pendahuluan

Biogas merupakan salah satu sumber energi alternatif yang dapat diperbarui. Selain biogas, terdapat juga sumber energi dari biomassa lainnya seperti *biodiesel*, bioetanol, minyak jarak pengganti solar. Biogas pada prinsipnya dapat dibuat dari segala jenis sampah organik, sehingga sering disebut gas klar (sewerage gas), gas gobar, bioenergi RDF (*Refuse Derived Fuel*).¹

Beberapa tahun terakhir telah berkembang penelitian mengenai produksi biogas dari limbah organik dari sektor pertanian maupun industri. Teknologi ini dapat mereduksi polusi di udara disebabkan gas metan dan karbondioksida sebagai unsur terbanyak dalam biogas tersebut. Jika kedua gas ini terbentuk secara alami maka akan lepas begitu saja ke udara sehingga menyebabkan efek rumah kaca. Terutama metan, memberikan pengaruh dua puluh satu kali lebih besar dibandingkan

karbondioksida dalam menimbulkan efek rumah kaca.²

Biogas dapat diperoleh dari penguraian bahan organik oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerob. Bahan organik tersebut dapat berasal dari feses hewan dan manusia, limbah pertanian, sampah kota, limbah industri dan bahan-bahan lain yang memiliki kandungan organik. Salah satu industri di Sumatera Barat yaitu pengolahan kelapa sawit menjadi CPO (*Crude Palm Oil*).

Berbagai penelitian mengenai produksi biogas dari limbah cair pabrik minyak kelapa sawit (LCPMKS) sebelumnya telah pernah dilakukan. Penelitian Mahajoeno (2008) mengenai potensi biogas dari limbah cair pabrik sawit sumber kolam anaerob I dan II pabrik CPO dengan penambahan inokulum kotoran sapi. Hasilnya menunjukkan bahwa kedua sumber limbah berpotensi menghasilkan biogas.³

Setelah itu Agustine (2011) pernah meneliti perbandingan yang baik untuk POME (*Palm Oil Mill Effluent*) dan aktivator kotoran sapi pada produksi biogas. Ternyata perbandingan 90%:10% POME terhadap kotoran sapi menghasilkan biogas paling banyak di antara yang lain, sedangkan 70%:30% lebih bagus dibandingkan 80%:20%.⁴

Pabrik penghasil CPO menghasilkan limbah cair yang mengandung lemak kasar dan serat kasar yang cukup tinggi serta protein (Simanjuntak). Selain itu masih terdapat sisa minyak dari perebusan tandan buah segar. Tingginya kadar lemak dan serat kasar tersebut mengindikasikan tingginya kandungan senyawa karbon di dalamnya.⁵

Menurut Deublein dan Steinhäuser pembentukan biogas optimum terjadi pada substrat dengan rasio C/N 20:1 sampai dengan 30:1. Menurut Gomez *et al* (2005) bahwa proses *co-digestion* dapat memperbaiki rasio karbon terhadap nitrogen pada substrat yang kelebihan karbon yaitu dengan penambahan bahan lain yang memiliki kadar nitrogen yang cukup tinggi.⁶

Pada penelitian yang pernah dilakukan oleh Herawati, dkk (2010), limbah sawi hijau digunakan sebagai ko-substrat. Penambahan sampah sawi hijau menurunkan rasio C/N dari substrat jerami padi dalam produksi biogas dari 50-70 menjadi 20 dengan perbandingan tertentu.⁷

Limbah cair pabrik kelapa sawit penghasil CPO masih menyisakan minyak yang berasal dari proses perebusan tandan buah segar. Menurut Suyani (1996), konsentrasi minyak dalam limbah cair keluaran pabrik yaitu 6134 mg/L. Konsentrasi ini masih tinggi untuk langsung dilepas ke perairan.⁸ Oleh sebab itu dilakukan penelitian mengenai produksi biogas dari limbah cair pabrik minyak kelapa sawit (LCPMKS) dengan penambahan sampah sawi hijau sebagai ko-substrat. Penambahan *sludge* kotoran sapi sebagai inokulum diharapkan

dapat mempercepat terjadinya proses fermentasi (Sufyandi, A., 2001).⁹

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari sampel limbah cair kelapa sawit hasil produksi *Crude Palm Oil* (CPO) yang diperoleh dari PT Minang Agro (Kab.Agam), feses sapi potong sebagai inokulum yang diperoleh dari kandang sapi potong milik Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang, limbah sawi hijau sebagai ko-substrat yang dikumpulkan dari Pasar Raya Padang, air kran, glukosa ($C_6H_{12}O_6$), kalium bikromat ($K_2Cr_2O_7$), asam sulfat (H_2SO_4) 95-97% p.a (Merck), campuran selenium (Merck), akuades, sodium hidroksida (NaOH) (Wako Pure Chemical Industries), asam klorida (HCl) 37%, asam boraks (H_3BO_3) 1%, dan Indikator Conway.

Peralatan yang digunakan terdiri dari jirigen plastik 20 L sebagai biodigester, balon plastik penampung gas hasil fermentasi, selang plastik diameter 1cm, batang pengaduk, neraca teknis, neraca analitik, pH-meter, desikator, dan berbagai peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium. Instrumen yang digunakan terdiri dari spektrofotometer dan oven (Memmert).

2.2. Prosedur penelitian

Persiapan Inokulum. Kotoran sapi yang masih masih 1 hari langsung dikumpulkan dari kandangnya. Pengenceran kotoran sapi menggunakan air kran dengan perbandingan 1:1,5. Selanjutnya dibiarkan dalam suasana anaerob selama 12 hari.

Persiapan Substrat. Limbah cair pabrik minyak kelapa sawit (LCPMKS) diambil dari kolam penampungan limbah cair yang telah melalui menara pendinginan di PT Minang Agro, Desa tiku V, Kecamatan Tanjung Mutiara, Kabupaten Agam. Sampel limbah cair diambil langsung dari kolam

limbah perusahaan. Sampel diambil dengan cara memasukkan jirigen penyimpanan limbah ke dalam air limbah sampai jirigen tersebut terisi penuh kemudian diangkat dan ditutup dengan rapat. Penyimpanannya dilakukan pada lemari pendingin sampai limbah digunakan sebagai substrat.

Sementara limbah sawi hijau diperkecil ukurannya dengan cara ditumbuk hingga berukuran sekitar ± 2 mm. Selanjutnya dibiarkan membusuk (2 hari) sampai digunakan sebagai ko-substrat.

Kadar air. Analisis kadar air terhadap masing-masing substrat dan campurannya dilakukan secara gravimetrik sesuai dengan Official Methods of Analysis of AOAC International (2000).⁹

C-organik. Analisis total C dikerjakan dengan metode spektrofotometri (Official Methods of Analysis of AOAC International 2000).⁹

N-Total. Analisis N total dikerjakan berdasarkan pada metode Kjeldahl (Anonimus, 2005).⁹

Produksi Biogas

Bahan baku substrat utama yaitu limbah cair pabrik minyak kelapa sawit (LCPMKS) dan substrat tambahan berupa limbah sawi hijau, menggunakan *slurry* fermentasi anaerob dari kotoran sapi sebagai inokulum. Biodigester yang digunakan yaitu tipe *Batch* berkapasitas 20 L. Biodigester penghasil biogas dibagi menjadi empat unit dan tiap unit berisi substrat dan inokulum dengan total volume 10L. Unit I berisi inokulum dan LCPMKS dengan perbandingan 9L : 1L (LC:SW_{100:0}) dan digunakan sebagai kontrol. Unit II berisi 1L inokulum, serta LCPMKS dan limbah sawi hijau dengan perbandingan 7,2L : 1,8L (LC:SW_{80:20}). Unit III berisi 1 L inokulum, LCPMKS dan limbah sawi hijau dengan perbandingan 5,4L: 3,6L (LC:SW_{60:40}).

Digester hanya diisi satu kali selama periode penelitian. Bahan dicampur dan

diaduk sehomogen mungkin dan selanjutnya dibiarkan selama 60 hari. *Slurry* yang sudah homogen dianalisis kadar Air, C-Organik dan N-Total dari masing-masing campuran. Biogas yang dihasilkan ditampung menggunakan balon plastik.

Penentuan Volume Biogas

Setelah 60 hari, volume biogas dihitung menggunakan metoda *Floating-Drum*. Metoda ini menggunakan dua buah wadah ember yang mempunyai ukuran berbeda.. Ember kecil ditelungkupkan dalam ember besar yang terlebih dahulu diisi air. Pada dua sisi ember besar dipasang besi penyangga untuk menjaga posisi ember kecil agar tidak bergeser. Kemudian diatas ember kecil dipasang dua buah kran *compressor* untuk mengatur udara yang masuk dalam ember kecil. Setelah itu balon yang telah berisi biogas dialirkan menggunakan slang yang disambungkan dengan salah satu kran.

Dicatat skala kenaikan ember kecil dan diameter embernnya untuk digunakan dalam perhitungan volume biogas, dengan menggunakan rumus :

$$\text{Volume} = 1/3 \pi t (R^2 + Rr + r^2)$$

Keterangan :

t = jarak lingkaran besar ke lingkaran kecil (cm)

R = Jari-jari ember besar (cm)

r = jari-jari ember kecil (cm)

Penentuan Kadar Metan dalam Biogas

Kadar metan dalam gas dihitung setelah dikurangi dengan jumlah karbondioksida dan asumsi kadar hidrogen sulfida sebesar 3%. Prinsip penentuan karbondioksida adalah absorpsi gas tersebut setelah dilewatkan pada larutan NaOH 20%. Dengan melakukan penyerapan tersebut maka dapat diketahui jumlah volume gas yang terserap sebagai volume CO₂. Caranya yaitu dengan memasukkan masing-masing 30 mL gas hasil ke sebuah alat menyerupai *syringe*. Kemudian secara perlahan gas tersebut dilewatkan pada larutan NaOH 20% dalam wadah U. Selanjutnya dibiarkan naik kembali ke *syringe* dan dicatat volume

yang tersisa pada *syringe* dan ditetapkan sebagai volume biogas tanpa CO₂. Sementara volume CO₂ dihitung dari selisih volume total gas yang dimasukkan dengan volume gas yang naik kembali ke *syringe*. Percobaan dilakukan sebanyak dua kali, namun untuk percobaan kedua dicobakan terhadap masing-masing gas sebanyak 20 mL.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik LCPMKS dan Sampah Sawi Hijau

Hasil analisis secara kimia dan fisika terhadap sampel limbah cair pabrik minyak kelapa sawit dan sampah sawi hijau ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Limbah Cair PT. Minang Agro dan Limbah Sawi Hijau

Parameter	LCPMKS	Sawi Hijau
pH	4,72	5,67
Temperatur (°C)	44	-
C-organik (%)	83,6024	7,6315
N-total (%)	0,4935	0,2985

Analisis fisika menunjukkan bahwa limbah cair pabrik kelapa sawit yang sudah melewati menara pendinginan bersifat kental, berwarna kecoklatan kelihatan mengandung minyak, dan berbau. Parameter tersebut berada di atas ambang baku mutu peruntukan yang telah ditetapkan MENKLH 1995 sehingga limbah ini memiliki potensi sebagai pencemar lingkungan.³ Kadar karbon organik yang cukup tinggi yaitu 83,6024 % pada limbah cair ini menunjukkan karbon penyusun lemak, selulosa, dan protein. Sementara kadar nitrogen total yang dimiliki hanya 0,355 %. Pada produksi biogas, kadar nitrogen yang tidak seimbang dengan kadar karbon organik dalam limbah ini memungkinkan terjadinya penurunan potensi limbah cair kelapa sawit dalam menghasilkan biogas.

Analisis kimia menunjukkan bahwa sampel limbah sawi hijau memiliki rasio C/N 25,57. Angka ini menunjukkan bahwa jumlah karbon dalam sawi hijau tidak terlalu tinggi

terhadap jumlah nitrogennya. Ketersediaan dan keseimbangan nutrisi bagi organisme merupakan hal yang perlu dikendalikan pada proses fermentasi ini. Berdasarkan analisis tersebut maka diketahui bahwa limbah sawi hijau memang dapat dijadikan sebagai ko-substrat untuk memperbaiki imbalan karbon terhadap nitrogen pada substrat untuk produksi biogas dari LCPMKS.

3.2 Rasio C/N Setelah Penambahan ko-substrat Kemampuan limbah sawi hijau sebagai ko-substrat dibuktikan melalui tabel di bawah ini.

Tabel 2. Rasio C/N pada Semua Perlakuan

Perlakuan	Vol. LCPMKS	Vol. Sawi Hijau	C/N
LC:SW _{100:0}	9 L	0	46,94
LC:SW _{80:20}	7,2 L	1,8 L	23,94
LC:SW _{60:40}	5,4 L	3,6 L	29,13

Kemampuan sampah sawi hijau sebagai ko-substrat untuk menurunkan imbalan karbon dan nitrogen limbah cair pabrik kelapa sawit terbukti dari rasio C/N substrat LC:SW_{100:0} (LCPMKS:kotoran sapi 90:10) yang awalnya 46,94:1, setelah ditambahkan limbah sawi hijau berubah menjadi 23,94:1 dan 29,13:1 masing-masing pada perlakuan LC:SW_{80:20} dan LC:SW_{60:40}. Biogas paling baik dihasilkan pada rentang rasio C/N optimum, yaitu 20:1 – 30:1.⁵ Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan substrat limbah cair yang dikombinasikan dengan sampah sawi hijau untuk kedua perbandingan telah memperbaiki rasio C/N bahan isian yang semula cukup jauh dari rentang C/N optimum.

3.3 Volume Biogas Setelah 60 Hari Fermentasi

Berdasarkan Tabel 3 ternyata volume biogas paling banyak dihasilkan dari penampung LC:SW_{60:40} yaitu 2,439128 L kemudian pada penampung LC:SW_{100:0}, yaitu 2,355235 L dimana semuanya diukur pada hari fermentasi ke-60. Volume total biogas pada akhir fermentasi bisa jadi berbeda-beda karena waktu retensi setiap perlakuan juga berbeda-beda. Hal ini disebabkan waktu yang dibutuhkan mikroorganisme mulai dari fasa adaptasi sampai fasa kematian tidak selalu sama.

Tabel 3. Volume Biogas Hasil

Perlakuan	Volume Biogas (L)
LC:SW _{100:0}	2,355235
LC:SW _{80:20}	1,605961
LC:SW _{60:40}	2,439128

3.4. Kadar Metan dalam Gas

Kadar metan diperoleh dari hasil penentuan kadar gas karbondioksida setelah absorpsi dengan larutan NaOH 20%. Sebelumnya diperhitungkan asumsi kadar hidrogen sulfida berdasarkan kadar tertingginya dalam biogas menurut Juangga (2007), yaitu 3%.¹⁰

Disebabkan jumlah karbondioksida dan hidrogen sulfida sudah diketahui maka dapat ditentukan kadar metan sebagaimana tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar Metan dalam Gas Hasil

Rasio C/N	Kadar CO ₂ rata-rata(%)	Kadar CH ₄ (%)
46,94	30	67
23,94	34,17	62,83
29,13	27,92	69,08

Berdasarkan tabel di atas ternyata kadar gas metan paling banyak adalah gas yang dihasilkan pada penampung LC:SW_{60:40}. Sementara gas pada penampung LC:SW_{80:20} kadar metannya lebih sedikit dibandingkan LC:SW_{100:0}. Kadar metan dalam biogas dipengaruhi oleh kemampuan mikroorganisme untuk menguraikan substrat organik dan ketersediaan karbon dan nitrogen dalam digester.

3.5 Perbandingan Nilai C/N dengan Volume Biogas dan Kadar Metan

Perlakuan LC:SW_{100:0} lebih bagus dibandingkan perlakuan LC:SW_{80:20} berdasarkan volume gas hasil dan kadar karbondioksida yang terkandung dalam gas tersebut. Perlakuan LC:SW_{100:0} menghasilkan biogas sebanyak 2,355235 L dengan kadar karbondioksida sebanyak 0,7065705 L (30%), sementara pada perlakuan LC:SW_{80:20} biogas yang dihasilkan paling sedikit dengan kadar karbondioksida paling besar yaitu 34,17%. Ternyata kombinasi 80% limbah cair sawit dan 20%

sampah sawi hijau tidak lebih baik dibandingkan biogas yang diproduksi dari substrat limbah cair pabrik kelapa sawit saja.

Tabel 5. Perbandingan Rasio C/N dengan Volume Biogas dan Kadar Metan

Perlakuan	Rasio C/N	Vol.Biogas (L)	Kadar Metan (%)
LC:SW _{100:0}	46,94	2,355235	67
LC:SW _{80:20}	23,94	1,605961	62,83
LC:SW _{60:40}	29,13	2,439128	69,08

Berdasarkan tabel di atas, tidak terjadi kenaikan volume biogas setelah kombinasi limbah cair sawit dengan sawi hijau 20%, malah terjadi penurunan volume biogas, begitupun kadar karbondioksida dari biogas yang dihasilkannya. Hal ini disebabkan pada kombinasi tersebut jumlah karbon organik masih tidak seimbang dengan jumlah nitrogennya akibat kadar limbah cair pabrik kelapa sawit masih banyak dibandingkan sampah sawi hijau. Pada kenyataannya bakteri mengkonsumsi karbon tiga puluh kali lebih cepat dibandingkan nitrogen. Sehingga pada percobaan ini rasio C/N yang mendekati 30:1 merupakan perbandingan terbaik pada produksi biogas maupun kualitas gas dari LCPMKS yang dikombinasi dengan sampah sawi hijau.

IV. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menginformasikan bahwa limbah sawi hijau dapat digunakan sebagai ko-substrat pada produksi biogas dari limbah cair pabrik kelapa sawit dalam sistem *batch*. Penambahan limbah sawi hijau dapat memperbaiki C/N substrat limbah cair kelapa sawit yang awalnya 46,94:1 menjadi 24,82:1 (LC:SW_{80:20}) dan 29,97:1 (LC:SW_{60:40}).

Hasil pengukuran terhadap volume biogas dalam penampung menunjukkan bahwa biogas paling banyak dihasilkan dari kombinasi LCPMKS 60:40, yaitu 2,439128 L, kemudian kombinasi 100:0 sebanyak 2,355235 L lalu perbandingan 80:20 yaitu 1,605961 L. Sementara kadar metan tertinggi

terdapat pada perbandingan 60:40, yaitu sebesar 69,08%.

V. Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada Dosen Pembimbing yang telah mengarahkan penelitian dan dalam proses perbaikan jurnal ini. Selanjutnya kepada para analis dan teknisi laboratorium Bioteknologi FMIPA Universitas Andalas dan Laboratorium Kimia Kopertis Wilayah X.

Referensi

1. Simanjuntak, M. E., **2005**, Beberapa Energi Alternatif yang Terbarukan dan Proses Pembuatannya. *Teknik SIMETRIKA*, 4, 287 – 293.
2. Widodo, T. W., Ana N., A. Asari, dan Elita R. Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian Untuk Energi Biogas, Banten : *Departemen Pertanian*.
3. Mahajoeno, D., Lay, B. W., Sutjahjo, S. H., dan Siswanto, **2008**, Potensi Limbah Cair Pabrik Minyak Kelapa Sawit untuk Produksi Biogas. *Jurnal Biodiversitas*, Vol. 9, 48-52
4. Restiyana, A., **2011**, Produksi Biogas dari Palm Oil Mill Effluent (POME) dengan Penambahan Kotoran Sapi Potong sebagai Aktivator, *Institut Pertanian Bogor*, Bogor.
5. Edhy, M., dan Siregar, Z. ,**2004**, Pemanfaatan Hidrolisat Tepung Kepala Udang dan Limbah Kelapa Sawit yang Difermentasi dengan *Aspergillus Niger*, *Rizhopus Oligosporus* dan *Thricoderma Viridae* dalam Ransum Ayam Pedaging. *Universitas Sumatera Utara*, Medan.
6. Liu, G., Zhang , R., Sun, Z., Li, X., and Dong, R. J., **2007**, Research Progress in Anaerobic Digestion of High Moisture Organic Solid Waste. *CIGR Ejournal* IX.
7. Sulaiman, S., dan Eviati, **2005**, Petunjuk Teknis Analisis Kimia Tanah, Air, dan Pupuk. Pertanian, *Balai Penelitian Tanah Bogor*, pp 48-107.
8. Suyani, H., **1996**, Penentuan Komposisi Kimia Limbah Sawit. *Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, UNAND
9. Mayasari, H. D., Iir M. R, Lely, N., dan Muhammad, R. A., **2010**. Pembuatan Biodigester dengan Uji Coba Kotoran Sapi sebagai Bahan Baku; *Universitas Sebelas Maret*: Surakarta.
10. Chotwattanasak, and J. Puetpaiboon, U., **2011**, Full Scale Anaerobic Digester for Treating Palm Oil Mill Wastewater *Sustainable Energy & Environment*, 2, 133-136.
11. Juangga, N., **2007**, Proses Anaerobic Digestion.

STUDI ADSORPSI PENJATUHAN 2 DAN 4 ATOM BORON PADA PERMUKAAN GRAFENA MENGGUNAKAN METODE SEMIEMPIRIS AM1

Devi Armelya, Imelda, dan Emdeniz

Laboratorium Kimia Komputasi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail : imelda@fmipa.unand.ac.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

This work reports the study of boron atoms adsorption on an optimum graphene ($C_{24}H_{12}$) surface by Austin Model 1 (AM1) method of Hyperchem program using a computer with Intel Pentium IV with 2.00 GHz processor. Boron atoms were dropped on three positions: on top (perpendicular), bridge (between two C atoms) and hollow (hexagonal center) on the graphene planar surface. The results showed that some of boron atoms could be adsorbed in the form of bridge tilted and top tilted on the graphene surface and the others were set-apart from that surface forming B_2 , B_3 , B_4 acyclic compounds. It was observed that the bonding energy (BE) of graphene surface were -4630.833 (kcal/mol) and -4646.352 - (-4973.8013) (kcal/mol), before and after boron atoms adsorption, respectively. While the band gap energy (ΔE) of graphene surface were 7.2093 eV and from 3.0816 to 7.0768 eV at the same condition as previously mentioned. It was revealed that boron adsorption on graphene surface may decrease ΔE of such compound. Therefore, boron is predicted as potentially atom to improve graphene from electronically act as insulator to become semiconductor. The optimum position for that can be achieved by dropping four boron atoms on top position with $\Delta E = 3.0816$ eV.

Key Words : Computation, Adsorption, Graphene, Boron, AM1

I. Pendahuluan

Beberapa tahun ini, perkembangan nanoteknologi melaju sangat cepat. Teknologi ini diprediksikan oleh *Futuris Toffler* dalam sebuah makalahnya sebagai "Teknologi 50 Tahun Mendatang". Seiring dengan perkembangan nanoteknologi, *Graphene* (nama yang diberikan pada lapisan tunggal dari atom karbon yang memenuhi struktur *benzene-ring*, dan secara luas digunakan untuk menggambarkan banyak material *carbon-based*) dianggap sebagai material yang sedang bersinar dalam ilmu pengetahuan material dan ilmu fisika. Pada

penelitian ini digunakan grafena sebagai pengadsorpsinya¹.

Menurut *Walt de Heer* dari Georgia Institute of Technology, bahwa grafena yang sifat fisiknya dapat diatur dari logam sampai ke semikonduktor mempunyai hari depan yang baik untuk industri elektronika, sebab mudah diproses untuk menghasilkan produk yang berkualitas dibanding tabung karbon ukuran nano. Oleh sebab itu, banyak juga peneliti berminat mempelajari grafena, misal *Tachikawa dan Shimizu*^{2,3}.

Grafena merupakan senyawa karbon yang mempunyai struktur lapisan. Berbagai

macam unsur kimia dapat diserap oleh lapisan ini. Tetapi kemampuan adsorpsi grafena terhadap unsur kimia berbeda-beda. Hal ini disebabkan karena sifat dasar dan kemampuan untuk membentuk ikatan dengan grafena yang berbeda.

Grafena ini dapat diatur sifat daya hantar listriknya. Kita dapat membuatnya menjadi bahan isolator, semikonduktor, dan konduktor dengan cara menjatuhkan atom ke dalam struktur grafena tersebut, dimana grafena ini memiliki daya adsorpsi terhadap beberapa unsur kimia¹.

Beberapa penelitian tentang adsorpsi atom pada permukaan grafena seperti oksigen, karbon dan fosfor telah dilakukan. Akan tetapi penelitian tentang adsorpsi atom boron belum pernah dilakukan. Berdasarkan alasan tersebut, maka dilakukan penelitian tentang adsorpsi atom boron pada permukaan grafena.

Atom boron merupakan konduktor listrik yang baik, sehingga diharapkan dengan adsorpsi atom boron dapat menurunkan energi gap (ΔE) dari grafena.

Untuk mengetahui perbedaan daya adsorpsi grafena terhadap atom boron, maka perlu diketahui energi ikatan dan panjang ikatan antara grafena dengan atom boron. Sedangkan untuk mengetahui sifat daya hantar listriknya perlu diketahui nilai energi gap (ΔE) dari sistem. Untuk penentuan energi ikatan, panjang ikatan dan energi gap (ΔE) digunakan suatu metode komputasi menggunakan program Hyperchem. Pada program tersebut terdapat banyak metoda yang dapat digunakan dalam kimia kuantum.

Salah satunya AM1 (Austin Model 1). Metode semiempiris Austin Model 1 (AM1) dipilih untuk digunakan dalam penelitian ini karena memiliki ketepatan prediksi yang lebih baik, tidak memerlukan memori yang besar dan waktu yang relatif cepat dalam proses perhitungannya^{4,5}.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Waktu dan tempat penelitian serta Alat yang digunakan

Penelitian ini dilaksanakan mulai Oktober 2012 sampai dengan Maret 2013 di Laboratorium Komputasi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat komputer Intel Pentium IV Processor 2.80 GHz, printer, dan Compact Disc paket Program *Hyperchem pro 8.0* (Metoda AM 1)

2.2. Struktur yang diamati

2.2.1 Permukaan Grafena Sebelum Dijatuhkan Atom Boron

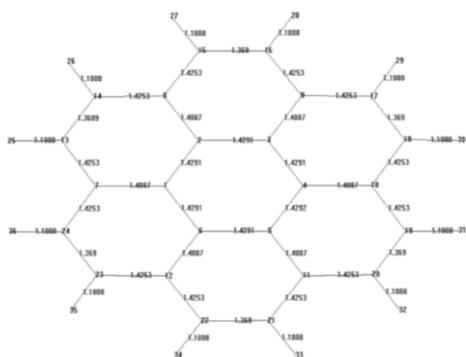
Penelitian ini menggunakan grafena sebagai substrat yang akan menyerap atom-atom boron. Grafena ini terdiri dari beberapa atom karbon yang tersusun rapat membentuk 7 cincin, dengan rumus molekul $C_{24}H_{12}$. Model grafena ini dibuat dengan panjang ikatan awal sebelum dilakukan optimasi yaitu :

1. r_{C-C} : 1,416 Å
2. r_{C-H} : 1,2 Å
3. Sudut C-C-C : 120°
4. Sudut H-C-C : 120°

Pada permukaan grafena ini, atom C dibagi atas 3 kelompok :

1. C kelompok 1 : C1, C2, C3, C4, C5, C6
2. C kelompok 2 : C7, C8, C9, C10, C11, C12
3. C kelompok 3 : C13, C14, C15, C16, C17, C18, C19, C20, C21, C22, C23, C24

Pengelompokan atom C pada permukaan grafena tersebut berdasarkan pada *Net Charge* (muatan) masing-masing atom pada molekul $C_{24}H_{12}$.



Gambar 1. Permukaan grafena setelah dioptimasi

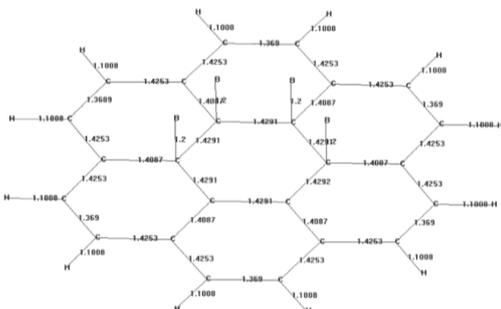
Permukaan grafena inilah nantinya yang akan dijatuhkan atom-atom boron yang kemudian dioptimasi kembali sehingga didapatkan keadaan yang optimum.

2.2.2. Permukaan Grafena Setelah Dijatuhkan Atom Boron

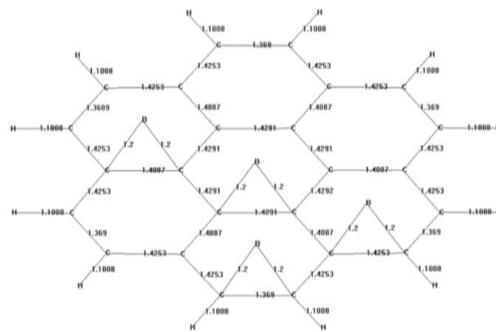
Pada penelitian ini, permukaan grafena akan dijatuhkan sebanyak 2 dan 4 atom boron. Posisi penjatuhan atom boron pada permukaan grafena dilakukan secara aksial. Ada tiga posisi yang mungkin yaitu :

1. Posisi *bridge* adalah posisi penjatuhan atom boron ke titik tengah garis hubung dua atom karbon dan tegak lurus terhadap permukaan grafena.
2. Posisi *on-top* adalah posisi penjatuhan atom tepat diatas atom C pada grafena.
3. Posisi *hollow* adalah posisi penjatuhan atom pada pusat heksagonal grafena¹⁵.

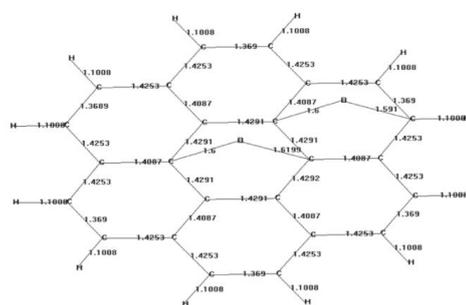
Panjang ikatan C-B untuk posisi on top 1,2 Å, bridge 1,2 Å dan hollow 1,6 Å. Seperti yang terlihat pada gambar 4, 5 dan 6.



Gambar 2. Posisi penjatuhan 4 boron pada permukaan grafena (on top)



Gambar 3. Posisi Penjatuhan 4 boron pada permukaan grafena (bridge)



Gambar 4. Posisi penjatuhan 2 boron pada permukaan grafena (hollow)

2.2.3 Prosedur Kerja

1. Dibuka program Hyperchem, sehingga muncul jendela Hyperchem.
2. Dipilih metoda AM1, klik menu Set up pilih Semi empirical.
3. Dibuat permukaan grafena ($C_{24}H_{12}$), atur panjang ikatan dan sudut ikatan dengan ukuran :
 - r C-C = 1,416 Å
 - r C-H = 1,2 Å
 - Sudut C-C-C = 120°
 - Sudut H-C-C = 120°
4. Dioptimasi permukaan grafena, klik menu Compute pilih Geometri Optimization.
5. Dijatuhkan atom boron (B) dengan variasi jumlah atom sebanyak 2 dan 4 atom.
6. Diatur panjang ikatan dan sudut ikatannya sesuai dengan posisi :
 - On Top : r C-B = 1,2 Å
Sudut C-B-C = 90°
 - Bridge : r C-B = 1,2 Å
Sudut C-B-C = 60°

- Hollow : $r_{C-B} = 1,6 \text{ \AA}$
Sudut C-B-C = 60°
- 7. Dioptimasi permukaan grafena yang telah dijatuhkan atom boron, klik menu Compute pilih Geometri Optimization.
- 8. Setelah dioptimasi, hasil yang diperoleh yaitu Energi Ikatan (BE), Energi gap (ΔE) dan panjang ikatan.
- 9. Diamati pengaruh nilai BE dan ΔE yang diperoleh.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Optimasi Permukaan Grafena

Penelitian ini mengamati atom boron yang dijatuhkan pada permukaan grafena dengan menggunakan metoda semiempiris AM1. Permukaan grafena ($C_{24}H_{12}$) satu lapis mempunyai :

Total Energi	= - 74651,7778 (kcal/mol)
Total Energi	= - 118,9628 (a.u.)
Energi Ikatan (BE)	= - 4630,8333 (kcal/mol)
Gradient	= 0,0093 (kcal/mol/Ang)
E_{HOMO}	= - 8,1883 eV
E_{LUMO}	= - 0,9790 eV
ΔE	= 7,2091 eV

3.2 Permukaan Grafena dengan Adanya Atom Boron

Setelah penjatuhan atom pada permukaan grafena dan dilakukan optimasi didapatkan energi ikatan (BE) molekul yaitu energi ikatan dari sistem dan BE (B)/n yaitu energi ikatan dari atom boron tunggal.

Struktur boron yang terbentuk setelah diikat oleh permukaan dan dioptimasi terdiri dari struktur *bridge tilted* dan *top tilted*. Struktur *bridge tilted* artinya ikatan C-B-C yang tadinya membentuk sudut 90° dengan permukaan grafena sekarang menjadi $< 90^\circ$ seperti membentuk posisi jembatan dua miring dan struktur *top tilted* artinya ikatan C-B tegak lurus terhadap permukaan grafena seperti posisi on top tegak.

Berdasarkan panjang ikatan yang diperoleh terdapat 3 hal yang diasumsikan yaitu :

1. Ikatan kimia, terbentuk pada panjang ikatan antara $< 1,9 \text{ \AA}$. Ini disebut dengan adsorpsi kimia.
2. Ikatan fisika, terbentuk pada panjang ikatan antara $2,0 - 2,5 \text{ \AA}$. Ini disebut dengan adsorpsi fisika.
3. Ikatan boron dengan grafena akan lepas pada panjang ikatan $> 2,5 \text{ \AA}$.

3.2.1 Permukaan Grafena dengan 2 atom Boron

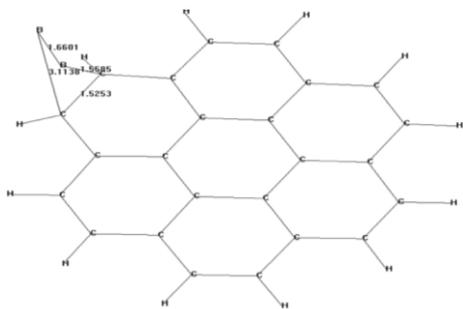
Penjatuhan pada posisi on top membentuk struktur *top tilted*, *bridge tilted* dan ada pula yang tidak diikat oleh permukaan grafena. Struktur *top tilted* akan terbentuk jika atom boron yang dijatuhkan setelah optimasi tidak mengalami difusi, jika atom tersebut berdifusi ke atom karbon tetangganya terbentuk struktur jembatan dua (*bridge tilted*) (Gambar.5), atom boron berdifusi dari C_7 ke C_{13} dengan jarak C_{13} $1,5499 \text{ \AA}$.

Kedua atom boron yang lepas dari permukaan grafena berikatan satu sama lain membentuk B_2 dengan r_{B-B} sekitar $1,6601 \text{ \AA}$ (Gambar.6), maka dapat dikatakan ikatan yang terjadi antara B - B pada B_2 hasil optimasi masih saling terikat membentuk ikatan kimia. Nilai energi ikatan (BE) sistem berkisar antara -4715,3695 sampai dengan -4780,9374 eV. Nilai energi gap (ΔE) yang dihasilkan berkisar antara $3,4689 - 7,0768 \text{ eV}$

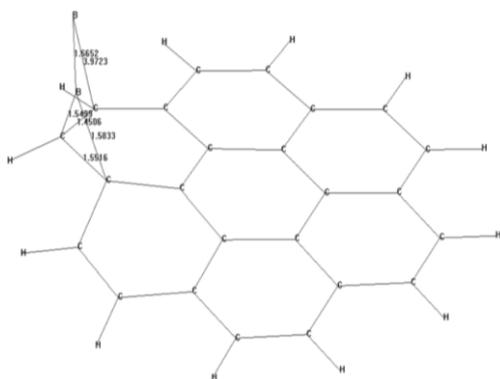
Penjatuhan dua atom boron pada permukaan grafena dengan posisi *bridge* memberikan struktur *bridge tilted* dan *top tilted*. Selain itu ada juga yang tidak diikat oleh permukaan grafena. Pada bentuk *top tilted* kedua atom boron tersebut saling berikatan satu sama lain membentuk B_2 dengan r_{B-B} sebesar $1,6631 \text{ \AA}$ (Gambar.7). Ikatan B - B pada B_2 hasil optimasi masih saling terikat membentuk ikatan kimia. Nilai energi ikatan (BE) sistem berkisar antara -4646,3521 sampai dengan -4774,3477 eV. Nilai energi gap (ΔE) yang dihasilkan berkisar antara $4,3996 - 6,6635 \text{ eV}$.

Penjatuhan atom boron pada posisi *hollow* membentuk struktur *bridge tilted* dan ada yang tidak diikat oleh permukaan grafena.

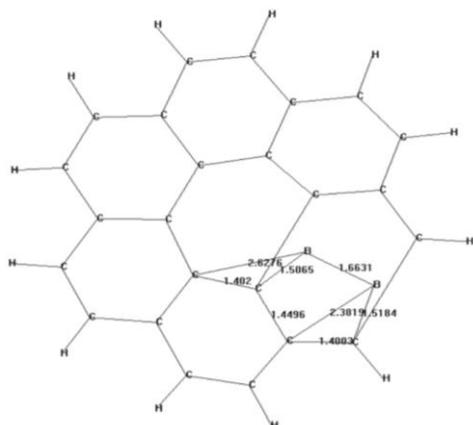
Kedua atom boron yang lepas dari permukaan grafena tersebut tidak saling berikatan satu sama lain, karena panjang ikatan C - B lebih besar dari 2,5 Å. Nilai energi ikatan (BE) sistem berkisar antara -4727,7022 sampai dengan -4753,9119 eV. Nilai energi gap (ΔE) yang dihasilkan berkisar antara 5,441 - 6,8581 eV.



Gambar 5. Penjatuhan 2 atom boron posisi *on top*



Gambar 6. Difusi pada penjatuhan 2 Atom boron posisi *on top*, membentuk B_2 asiklik



Gambar 7. Penjatuhan 2 atom boron posisi *bridge*, membentuk B_2 asiklik

Permukaan Grafena dengan 4 atom Boron

Penjatuhan boron pada posisi *on top* membentuk struktur *bridge tilted* dan *top tilted*, selain itu ada juga yang lepas dari permukaan grafena. Atom-atom boron yang lepas ini berikatan satu sama lain membentuk senyawa B_3 (Gambar.8) dan B_4 asiklik. Pada penjatuhan 4 atom boron membentuk senyawa B_3 asiklik, 3 atom boron terikat membentuk ikatan kimia dan 1 atom boron tidak terikat karena panjang ikatannya lebih besar dari 2,5 Å yaitu 2,8121 Å. Senyawa B_4 terbentuk bila atom boron terikat pada atom C kelompok 1. Ikatan antara B - B pada B_4 asiklik berkisar antara 1,4176 - 1,6179 Å (Gambar.9), maka dapat dikatakan ikatan yang terjadi antara B - B pada B_4 hasil optimasi masih saling terikat membentuk ikatan kimia. Nilai energi ikatan (BE) sistem berkisar antara -4813,5105 sampai dengan -4973,8013 eV. Nilai energi gap (ΔE) yang dihasilkan berkisar antara 3,0816 - 6,7032 eV. Penjatuhan 4 atom boron pada posisi *on top* menghasilkan energi gap (ΔE) terkecil sebesar 3,0816 eV (Gambar.10). Posisi ini merupakan posisi yang cocok untuk menghasilkan grafena sebagai semikonduktor.

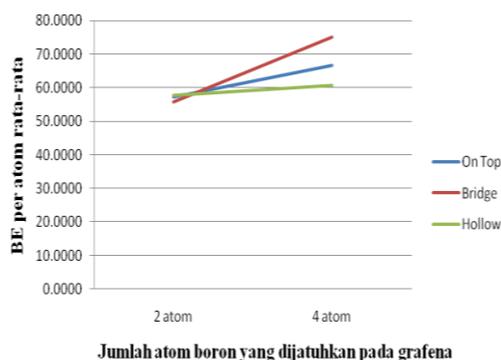
Penjatuhan empat atom boron pada permukaan grafena pada posisi *bridge* membentuk struktur *bridge tilted*, *top tilted* dan ada yang tidak diikat oleh permukaan grafena. Pada bentuk *bridge tilted* dua atom boron saling berikatan satu sama lain membentuk B_2 dengan r_{B-B} sebesar 1,7951 Å. Ikatan B - B pada B_2 hasil optimasi masih saling terikat membentuk ikatan kimia. Nilai energi ikatan (BE) sistem berkisar antara -4908,0424 sampai dengan -4943,1919 eV. Nilai energi gap (ΔE) yang dihasilkan berkisar antara 5,0049 - 6,2904 eV.

Penjatuhan atom-atom boron pada permukaan grafena pada posisi *hollow* memberikan struktur *bridge tilted* dan *top tilted*. Selain itu ada juga yang tidak diikat oleh permukaan grafena. Pada bentuk *bridge tilted* dua atom boron saling berikatan satu

Nilai energi ikatan (BE) sistem mengalami kenaikan apabila jumlah atom boron yang dijatuhkan pun juga besar. Semakin besar nilai energi ikatan (BE) sistem, maka penyerapan boron oleh permukaan grafena pun semakin besar. Hal ini dapat dilihat pada grafik energi ikatan (BE) sistem dan energi ikatan (BE) per atom dibawah ini :



Gambar 13. Hubungan BE sistem rata-rata dengan variasi jumlah atom boron yang dijatuhkan pada grafena untuk tiap posisi



Gambar 14. Hubungan BE per atom rata-rata dengan variasi jumlah atom boron yang dijatuhkan pada grafena untuk tiap posisi

IV. Kesimpulan

Dari hasil penelitian penyerapan atom-atom boron pada permukaan grafena

menggunakan paket *Hyperchem*, program AM1 dapat disimpulkan bahwa :

1. Tidak semua atom boron dapat diserap dimana kebanyakan atom boron akan dilepas (desorpsi).
2. Nilai energi gap (ΔE) sistem berkisar antara 3,0816 - 7,0768 eV. Penyerapan boron oleh permukaan dapat menurunkan energi gap (ΔE) grafena. Diramalkan boron berpotensi mengubah sifat grafena dari isolator ke semikonduktor.
3. Penjatuhan 4 atom boron pada posisi on top menghasilkan energi gap (ΔE) sebesar 3,0816 eV. Posisi ini merupakan posisi yang cocok untuk menghasilkan grafena sebagai semikonduktor.
4. Nilai energi ikatan (BE) sistem berkisar antara -4646,352 (kcal/mol) sampai -4973,8013 (kcal/mol).
5. Terbentuknya senyawa B₂, B₃, B₄ asiklik pada permukaan grafena, pada posisi-posisi tertentu.
6. Dengan terbentuknya senyawa yang lepas maupun terikat pada permukaan grafena, menunjukkan grafena juga bisa berfungsi sebagai katalis.

Sedangkan saran untuk penelitian selanjutnya yaitu sebagai berikut :

1. Memperbanyak variasi jumlah atom boron yang dijatuhkan pada permukaan grafena misalnya mencoba penjatuhan atom boron dengan jumlah ganjil pada permukaan grafena.
2. Mempelajari lagi posisi lain yang mungkin dalam penyerapan boron pada permukaan grafena dan menemukan molekul semikonduktor yang lain.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Analis Laboratorium Kimia Komputasi, Jurusan Kimia, Universitas Andalas.

Referensi

1. Geim, A.K dan Novoselov, K. S., **2007**, The Rise of Graphene. *Nature Materials*. Vol 6. 183 - 190.
2. Tachikawa, H. dan Shimizu, A., **2005**, Diffusion Dynamics of the Li⁻ ion on a Model Surface of Amorphous Carbons. *J. Phys. Chem. B*. 109, 13255 -13262.
3. Halford, B., **2006**, Graphene Eyed as the Next Big Thing in Carbon-Based Electronics. *Chemistry and Engeneering*, April 17, 34.
4. Dewar, M. J. S., **1984**, AM1 : A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *J. Am Chem Soc. American Chemical Society*. 3902 - 3909.
5. Allinger, N., **1996**, Hyperchem Release 5.0 for windows Reference Manual. *Hypercube, Inc. Canada*. Hal 1-3, 204-211.
6. Nuryadi, R., **2004**, Carbon Nanotube dan Teknologi Nano. *Sinar Harapan*.
7. Widiatmoko, E., **2004**, Sifat, Fabrikasi Dan Aplikasi Graphene. *Departemen Fisika, ITB*.
8. Tolanda, H., **2009**, Penentuan Kadar Boron Dalam Tanah Secara Spektrofotometri Dengan Pereaksi Azomethine-H. *Departemen Kimia, USU*.
9. Smith, C. E, Duerlesen, J. D., **1973**, Physical-Chemical Properties of beta-Rhombohedral Boron. *High Temp. Sci.* 5 (5): 349 - 57.
10. Maya, F.P., **2008**, Perancangan Pabrik Asam Borat dari Boraks dan Asam Sulfat dengan Proses Asidifikasi Kapasitas 31.500 Ton Per Tahun. Surakarta: *Universitas Muhamadiyah Surakarta*.
11. Grim, R. E., **1968**, Clay Mineralogy, 2nd edition. *Mc.Graw Hill Book Company*, New York.
12. Widyarningsih, S dan Purwati. R., **2007**, Pemodelan Senyawa Turunan Asam Karbamat Sebagai Senyawa Antikanker Menggunakan Metode Semiempiris AM1. *FMIPA, UNSOED, Purwokerto*. Vol. 2. No. 2 : 59 - 70.
13. Agung, P. **2010**, Simulasi Efektivitas Senyawa Obat Eritromisin F dan Δ 6,7 Anhidroeritromisin F Dalam Lambung Menggunakan Metode Semiempiris Austin Model 1 (AM1). *Kimia FMIPA Unnes*. Vol. 8 No. 1.
14. Tahir, I dan Wijaya, K., **2004**, Aplikasi Pemisahan Data Secara Acak pada Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik dan Aktivitas Senyawa Indolialkilamina. *Seminar Nasional Hasil Penelitian Farmasi*. 190 - 200.
15. Ito, J. **2008**, Semiconducting Nature of The Oxygen-adsorbed Graphene Sheet. *J. Phys. Chem. B*. 103, 182-8585, Japan.

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI DNA BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIMIKROBA DARI FERMENTASI MARKISA KUNING (*Passiflora edulis var. flavicarpa*)

Yuni Nurisva Maya Sari^a, Sumaryati Syukur^b, dan Jamsari^c

^{a,b}Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

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

e-mail: sumaryatisyukur@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Ten (10) isolates of lactic acid bacteria (LAB) from passion fruit (*Passiflora edulis var flavicarpa*) fermentation; M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, and M10; were isolated and screened based on morphology and antimicrobial activity. The morphology of all isolates is colony circular, convex elevation, break white's color, and Gram positive. Seven (7) isolates are rod and three (3) isolates are cocci. One isolate from all isolates, based on the highest diameter of its antimicrobial activity; M10; were determined its condition optimum activity, including temperature and pH. The temperature variations are 37, 45, 55, 65, and 75 °C. The pH variations are 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9. The result showed that the optimum temperature of M10 for *E.coli* at 37 °C and optimum pH at 5, for *Salmonella typhi*, M10 has optimum temperature at 37 °C and optimum pH at 6, and for *Staphylococcus aureus*, M10 has optimum temperature at 45 °C and optimum pH at 3. DNA identification of M10 by 27F-1525R showed that M10 has product about 1000 until 1500 bp.

Keywords: lactic acid bacteria (LAB), antimicrobial, passion fruit (*Passiflora edulis var flavicarpa*)

I. Pendahuluan

Markisa kuning (*Passiflora edulis var flavicarpa*) memiliki ciri-ciri berbentuk bulat sampai bulat agak lonjong atau oval, buah muda berwarna hijau, buah tua (masak) berwarna kuning muda berbintik-bintik putih, kulit buah agak tebal dan keras, berdiameter 5-7 cm, dan rasa buah asam manis dengan sari buah berwarna kuning. Dari 100 g bagian buah yang dapat dimakan mengandung 69-80 g air, 2,3 g protein, 2,0 g lemak (hampir semuanya berada dalam biji), 16 g karbohidrat, 3,5 g serat, 10 mg Ca, 1,0 mg Fe, 20 SI vitamin A, sedikit sekali tiamin, 0,1 mg riboflavin, 1,5 mg nisin, dan 20-80 g vitamin C serta nilai energi sebanyak 385 kJ/100g). Kandungan fitokimianya antara lain *passiflorine*, *harmin*, *Harman*, *harmol*, *harmalin*, vitekisin, isovitekisin, krisin, karoten, nisin, riboflavin, karotenoid 0,058%, flavonoid 1,000%, alkaloid 0,700%. Di Madeira, jus markisa

diberikan sebagai stimulant pencernaan dan pengobatan untuk kanker lambung. Selain itu jus markisa juga dapat digunakan sebagai obat penenang.¹



Gambar 1. Markisa kuning (*Passiflora edulis var flavicarpa*)

Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobic atau parsial anaerobic karbohidrat yang menghasilkan alkohol serta beberapa asam.² Gula seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa sebagai bahan dasar ketika difermentasi dalam kondisi anaerob akan menghasilkan etanol, asam laktat, asam butirat, aseton, dan hydrogen. Proses fermentasi ini akan mengakibatkan

terjadinya perubahan kondisi asam atau penurunan pH.³ Terjadinya penurunan pH mengindikasikan terjadinya aktifitas mikroba dalam menguraikan karbohidrat. Mikroba yang umum ditemukan dalam fermentasi adalah bakteri, khamir, dan kapang.⁴

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu bakteri yang dihasilkan selama proses fermentasi karbohidrat.⁴ Bakteri ini dapat memproduksi asam laktat, asam asetat, etanol, dan CO₂. Aktifitas bakteri ini dapat menyebabkan penurunan pH dimana bakteri patogen tidak dapat tumbuh pada pH yang rendah dan meningkatkan nilai sehat terhadap makanan atau minuman yang difermentasi.⁴ Selain itu, saat ini BAL digunakan untuk pengawetan, memberikan tekstur, dan menambah cita rasa makanan atau minuman.⁵

Secara umum BAL didefinisikan sebagai kelompok bakteri Gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang. Beberapa jenis bakteri asam laktat ada yang digolongkan ke dalam bakteri probiotik, seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus*. Bakteri asam laktat yang digolongkan ke dalam probiotik harus memiliki aktifitas antimikroba terhadap beberapa mikroorganisme tertentu, toleran terhadap asam lambung, dan tidak berbahaya.⁵

Beberapa sumber memaparkan bahwa pada buah-buahan dan sayuran seperti durian, nenas, markisa, cacao, pisang, mangga, tomat, kubis, asinan sawi, selada, kacang panjang, dan lain sebagainya adalah potensial sebagai sumber BAL.⁵ Markisa kuning merupakan salah satu buah-buahan yang diproduksi dari Alahan Panjang, Solok, Sumatera Barat.⁷ Mengingat manfaat dan kandungan buah markisa yang penting bagi kesehatan dan merupakan salah satu komoditas Sumatera Barat maka peneliti melakukan penelitian untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial dari buah markisa. Penelitian ini bermaksud untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL pada fermentasi markisa kuning (*Passiflora edulis var flavicarpa*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan, dan instrumentasi

Markisa kuning (*Passiflora edulis var flavicarpa*), MRS Agar (Merck), MRS Broth (Merck), Nutrien Agar (NA) (Himedia, India), asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), bakteri uji (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Escherichia coli*), gliserol (C₃H₈O₃), buffer Tris EDTA (TE), *Sodium Duodecyl Sulphonate* (SDS) (NaC₁₂H₂₅SO₄) 10 %, proteinase K 10 mg/μL, *phenol:chloroform* (C₆H₅OH:CHCl₃) (1:1), natrium asetat (CH₃COONa) 3 M, isopropanol (C₃H₈O), etanol (C₂H₅OH) 70 %, *viscantis agarose* (Molecular Biology Grade), buffer TBE (Tris-Boric-EDTA), etidium bromida (EtBr) (C₂₁H₂₀BrN₃), BPB (*Bromo Phenol Blue*) (C₁₉H₁₀Br₂O₅S), *primer 27F-1525R* (AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG - AAGGAGGTGWTCCARCC), safranin (C₂₀H₁₉N⁴⁺.Cl⁻), iodine (I), kristal violet (C₂₅N₃H₃₀Cl), deoksinukleotida trifosfat (dNTPs), dan *Taq polymerase*.

Peralatan dan instrument yang digunakan adalah berbagai gelas kimia, tabung *Eppendorf* 1,5 dan 2 mL, *laminar air flow cabinet* Bassaire Swanwick Southampton®, *bunsen*, *magnetic stirer* dan *hot plate*, *vortex* Heidolph Reax Control, pipet mikro Rainin Pipet One, mesin PCR Biometra® TPersonal, elektroforesis Advance Mupid - eXU, *sentrifuge* Sigma Sartorius, *gel dokumentasi* Biodoc Analyze Biometra, *oven* Sanyo 800W Compact Microwave, desikator, kertas saring Whatman, timbangan analitik KERN ABJ, *termometer*, pH meter, *shaker waterbath* Electronic Thermostat Water Tank YNC-WB-8L Yenaco®, inkubator Memmert, mikroskop ZEISS PrimoStar, dan autoclave Tomy SX-300.

2.2. Prosedur penelitian

Fermentasi Buah Markisa

Isi buah markisa dibungkus dengan daun pisang dikondisikan agar udara tidak masuk, ditempatkan dalam wadah fermentasi, dan difermentasi selama 72 jam pada suhu ruang.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Proses isolasi BAL dari markisa diawali dengan proses *enrichment*, dimana 1 g sampel pulp markisa yang telah

difermentasi dimasukkan ke dalam 9 mL MRS Broth (Merck), lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan ke dalam *jar* anaerobik dan di inkubasi dalam inkubator pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.

Setelah inkubasi, sampel diencerkan menggunakan media pepton water di dalam tabung Eppendorf. Pengenceran (*serial dilution*) dilakukan secara bertingkat sampai 10^{-9} , dengan cara $100\text{ }\mu\text{L}$ dari *enrichment* atau pengenceran 10^{-1} ditambahkan ke dalam tabung Eppendorf yang berisi $900\text{ }\mu\text{L}$ pepton water sehingga didapat pengenceran 10^{-2} , selanjutnya diambil $100\text{ }\mu\text{L}$ dari pengenceran 10^{-2} ditambahkan ke dalam tabung Eppendorf yang berisi $900\text{ }\mu\text{L}$ pepton water sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3} dan seterusnya hingga didapatkan pengenceran 10^{-9} .

Kemudian dilakukan proses *plating*, kultur dari pengenceran 10^{-9} diinokulasikan pada media MRS Agar (Merck) dengan metode gores, diinkubasi dalam inkubator pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam dengan suasana anaerob. Koloni BAL tunggal yang tumbuh dimurnikan kembali dengan cara menginokulasikan kembali koloni ke dalam media MRS Agar (Merck) secara gores dan diinkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam dalam suasana anaerob.

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

A. Identifikasi Morfologi BAL
Identifikasi morfologi BAL dilakukan dengan dua cara, yaitu identifikasi makroskopik dan mikroskopik. Identifikasi makroskopik yang diamati adalah bentuk, warna, dan ukuran koloni BAL yang tumbuh pada media MRS Agar sedangkan identifikasi mikroskopik yaitu bentuk sel dan identifikasi fisiologis dengan uji Gram.

B. Uji Antimikroba

BAL ditumbuhkan dalam kultur cair, di inkubasi selama 24 jam pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. BAL diujikan dengan bakteri indikator. Bakteri indikator yang digunakan adalah *E.coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri indikator ditumbuhkan selama 24 jam pada media LB (Liquid Broth) suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uji Antimikroba dilakukan

dengan menggunakan metode cakram, yaitu dengan cara bakteri indikator dioleskan merata pada permukaan media NA dengan menggunakan *Cottonboth*, kemudian kertas cakram dicelupkan ke dalam kultur cair BAL dan diletakkan pada permukaan NA yang telah ditumbuhi bakteri indikator sebelumnya. Diamati zona bening yang terbentuk pada jam ke 24, 48, dan 72. Kemudian dihitung diameter rata-rata zona bening yang terbentuk dari isolat-isolat yang didapat. Isolat yang memiliki diameter rata-rata zona bening tertinggi dilanjutkan ketahap selanjutnya.

Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktifitas Antimikroba

A. Suhu

Isolat terpilih diinkubasi pada MRS Broth selama 24 jam pada suhu 37, 45, 55, 65, dan $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ secara anaerob. Kultur yang terbentuk akan dilakukan uji antimikroba.

B. pH

Isolat terpilih diinkubasi pada media MRS Broth pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9 (menggunakan HCl dan NaOH sebagai pengatur pH); diinkubasi 24 jam pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ secara anaerob. Kultur yang terbentuk akan dilakukan uji antimikroba.

Isolasi DNA

Isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRS Broth, disentrifuse sebanyak 6 mL dengan mikrosentrifus pada suhu $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit, dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan dibuang, kemudian pelet sel yang diperoleh disuspensikan dengan menggunakan $500\text{ }\mu\text{L}$ $1\times\text{TE}$. Tambahkan $50\text{ }\mu\text{L}$ SDS 10 % dan $5\text{ }\mu\text{L}$ proteinase K 10 mg/mL dan dihomogenkan. Diinkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam. Ditambahkan $600\text{ }\mu\text{L}$ larutan Phenol : Chloform (P:C) (1:1), disentrifuse dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Ambil lapisan atas dan dipindahkan ke tabung Eppendorf baru. Ditambahkan lagi $600\text{ }\mu\text{L}$ PC, dibolak balik 3 kali, disentrifuse selama 5 menit. Ambil lapisan atas dan dipindahkan ke tabung Eppendorf baru, tambahkan dengan natrium asetat 1/10 dari volume yang ada kemudian tambahkan isopropanol 70% sebanyak 6/10 volume yang ada, lalu dibolak balik 3 kali. Sentrifus selama 5 menit

dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan dibuang dan pelet DNA dicuci dengan dengan 100 µL etanol 70% dingin, dikering anginkan dengan posisi tabung Eppendorf terbalik. Setelah kering larutkan dengan 1xTE sebanyak 25 µL.

Amplifikasi Gen 16S rRNA

DNA diamplifikasi menggunakan primer:
27F : AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG
M = C; A
1525R : AAG GAG GTG WTC CAR CC
W = A; T

Bahan-bahan yang digunakan untuk satu sampel dalam reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah 20 µl ddH₂O, 3 µl primer mix 27F-1525R 5pmol/µl, RTG (*Ready to Go*) kit, dan 2 µL templet DNA. Protokol PCR adalah sebanyak 30 siklus PCR (denaturasi 94 °C selama 5 menit, denaturasi berikutnya 94 °C selama 1 menit, *annealing* 57 °C selama 1 menit, ekstensi 72 °C selama 1 menit dan *final extension* 72 °C selama 5 menit). Produk PCR dianalisa dengan elektroforesis.

Elektroforesis

Sebanyak 25 µL produk PCR ditambah dengan 1,5 µL BPB (*Bromo Phenol Blue*) dielektroforesis pada 100 V selama 30 menit pada 1 % agarose gel dalam 0.5x TBE. Sebagai marker digunakan 1 kb DNA Ladder (Takara) dan DNA lamda 50 ng/µL. Gel kemudian divisualisasikan dengan sinar ultraviolet setelah ditambahkan etidium bromida.

Purifikasi DNA dari Gel

Gel yang akan dipurifikasi dipotong, dimasukkan ke dalam *Eppendorf*. Ditambahkan 200 µL *Membran Binding Solution*, dihomogenkan, dan kemudian diinkubasi selama 10 menit pada *water bath* suhu 65 °C. Larutan dipindahkan ke dalam *mini column* dalam sentrifugasi 14.000 rpm selama 1 menit, kemudian larutan di bawah *mini column* dibuang. DNA pada *mini column* dicuci dengan 700 µL *Membran Wash Sollution* (diulangi hingga dua kali) dan sentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. *Mini column* dipindahkan ke *Eppendorf* yang baru. DNA dilarutkan dengan penambahan 50 µL *Nuclease Free Water*, kemudian diinkubasi pada suhu

ruang selama 1 menit dan disentrifugasi 14.000 rpm. Buang *mini column* dan simpan DNA yang ada pada *Eppendorf* pada suhu -4 °C.

III. Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Markisa Kuning

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya perubahan pH selama proses fermentasi markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*), yaitu dari 4,5 menjadi 3,5. Terjadinya perubahan pH disebabkan karena proses oksidasi anaerobik atau parsial anaerobik pada saat fermentasi, yang menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Karbohidrat yang terkandung pada markisa kuning akan terurai menjadi senyawa-senyawa yang sederhana seperti asam laktat, asam asetat, asam propionat, dan etil alkohol. Peningkatan asam ini menyebabkan perubahan pH.

Widya (2012) melaporkan bahwa fermentasi growol yang bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat mengalami penurunan pH setelah difermentasi selama 72 jam, yang disebabkan karena meningkatnya jumlah mikroba penghasil asam sehingga menyebabkan terjadinya penurunan pH selama fermentasi.⁷ Surono (2004) juga menjelaskan bahwa selain asam laktat, pada saat fermentasi juga akan menghasilkan CO₂, asam asetat, etanol, manitol, dan senyawa-senyawa heksosa.⁸

Hasil inkubasi pada MRS Broth menunjukkan terjadinya perubahan kekeruhan media dari keadaan sebelumnya. Perubahan kekeruhan ini terjadi akibat pertumbuhan bakteri asam laktat dan asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri tersebut diekskresikan keluar sel, sehingga terakumulasi dalam cairan fermentasi yang akhirnya menyebabkan terbentuknya endapan.⁹ Kemudian kultur diinkubasi pada medium MRS Agar secara anaerob pada suhu 37 °C, hasilnya menunjukkan bahwa terbentuknya koloni-koloni bulat berwarna putih susu. Kemudian dipilih koloni-koloni dengan diameter yang besar untuk dijadikan sebagai isolat dan diuji morfologi serta kemampuan antibakterinya. Sepuluh

koloni dengan diameter yang besar diinkubasi lagi pada medium *MRS Agar* untuk memisahkan dan memurnikannya. Sepuluh koloni ini menjadi sepuluh isolat, dengan kode M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, dan M10. Koloni yang terbentuk pada isolat ini disimpan pada gliserol 67% agar dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama.

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Hasil identifikasi morfologi sepuluh isolat ditunjukkan pada Tabel 1. Secara makroskopis, sepuluh isolat yang didapatkan memiliki bentuk yang bulat, ukurannya bervariasi, berwarna putih dan putih kekuningan. Secara mikroskopis, warna yang dihasilkan dari uji pewarnaan Gram adalah warna ungu, yang berarti bahwa bakteri yang telah diisolasi merupakan Gram positif, dengan bentuk sel kokkus dan basil. Terdapat tiga isolat yang berbentuk kokkus, yaitu M1, M3, dan M10 dan tujuh isolat lainnya berbentuk basil, yaitu M2, M4, M5, M6, M7, M8, dan M9. Terbentuknya warna ungu disebabkan karena lapisan peptidoglikan yang mampu menyerap warna ungu yang diberikan oleh Kristal violet dan tetap mengikatnya, sehingga tidak dapat menyerap warna lain.

Tabel 1. Data identifikasi bakteri asam laktat

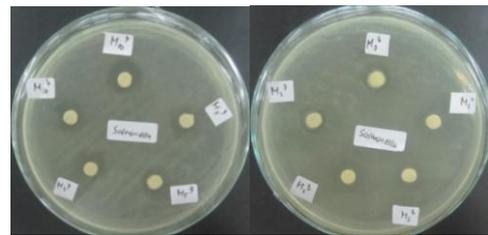
No	Isolat	Warna Morfologi	Warna Gram	Gram	Bentuk Sel
1	M1	Putih susu	Ungu	+	Kokus
2	M2	Putih susu	Ungu	+	Basil
3	M3	Putih susu	Ungu	+	Kokus
4	M4	Putih susu	Ungu	+	Basil
5	M5	Putih susu	Ungu	+	Basil
6	M6	Putih susu	Ungu	+	Basil
7	M7	Putih susu	Ungu	+	Basil
8	M8	Putih susu	Ungu	+	Basil
9	M9	Putih susu	Ungu	+	Basil
10	M10	Putih susu	Ungu	+	Kokus

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasi dari berbagai sumber memiliki morfologi yang sama. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi sirsak memiliki bentuk koloni

yang bulat dan berwarna putih susu, kokkus, serta merupakan Gram positif.¹⁰ Bakteri asam laktat yang diisolasi dari feces dan sistem pencernaan ayam merupakan Gram positif.¹¹ Bakteri asam laktat yang diisolasi dari daging sapi merupakan Gram positif dengan bentuk sel kokkus dan basil.⁶

Uji Antimikroba

Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram merupakan zona aktifitas antimikroba terhadap bakteri patogen. Terbentuknya zona bening dikarenakan adanya penghambatan senyawa antimikroba terhadap sel-sel mikroba. Secara umum mekanisme kerja dari suatu senyawa antimikroba dapat dilakukan dengan cara mengganggu atau merusak penyusun dinding sel, bereaksi dengan membrane sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas seluler, inaktivasi enzim-enzim esensial, dan destruksi atau inaktivasi fungsi dari materi genetik.



Gambar 2. Zona bening semua isolat terhadap *S.typhi*

Zona bening semua isolat yang terbentuk terhadap *S.typhi* ditunjukkan pada Gambar 2. Aktifitas antimikroba semua isolat terhadap berbagai bakteri patogen ditunjukkan pada Tabel 2. Isolat memiliki aktifitas antimikroba yang berbeda-beda untuk setiap bakteri patogen uji. Terjadinya perbedaan waktu inkubasi pada aktifitas antimikroba disebabkan karena isolat memiliki waktu pertumbuhan yang berbeda-beda. Pada awal pertumbuhan sel, isolat mampu mempertahankan keasaman sitoplasma, sehingga semua protein dan enzim yang berada di dalam sel dapat tetap bekerja secara optimal. Isolat mampu melakukan transport aktif pengeluaran proton sehingga nutrisi masih dapat ditranspor dan isolat dapat tumbuh. Untuk waktu inkubasi yang semakin lama, jumlah pengeluaran proton dan pemasukan proton

menjadi tidak seimbang sehingga isolat memasuki fase kematian. Keadaan ini terus menekan bakteri untuk bertahan dan zona bening menjadi kecil.

Isolate M1, M2, dan M3 memiliki waktu pertumbuhan yang stabil dalam menghambat *E.coli*. Puncak pertumbuhan isolate M4, M5, M7, M8, M9, dan M10, dalam menghambat *E.coli* terletak pada inkubasi 24 jam dan kemudian menurun pada inkubasi selanjutnya dan puncak pertumbuhan isolate M6 melawan bakteri patogen adalah pada inkubasi 48 jam dan menurun pada inkubasi selanjutnya (Gambar 3.a). Optimum pertumbuhan isolat dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi* dan *S.aureus* adalah pada inkubasi 24 jam (Gambar 3.b dan 3.c).

Secara umum, semua isolat memiliki kemampuan antimikroba terhadap bakteri patogen uji, *E.coli*, *S.typhi*, dan *S.aureus*. Namun tidak ada isolat yang menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi untuk semua

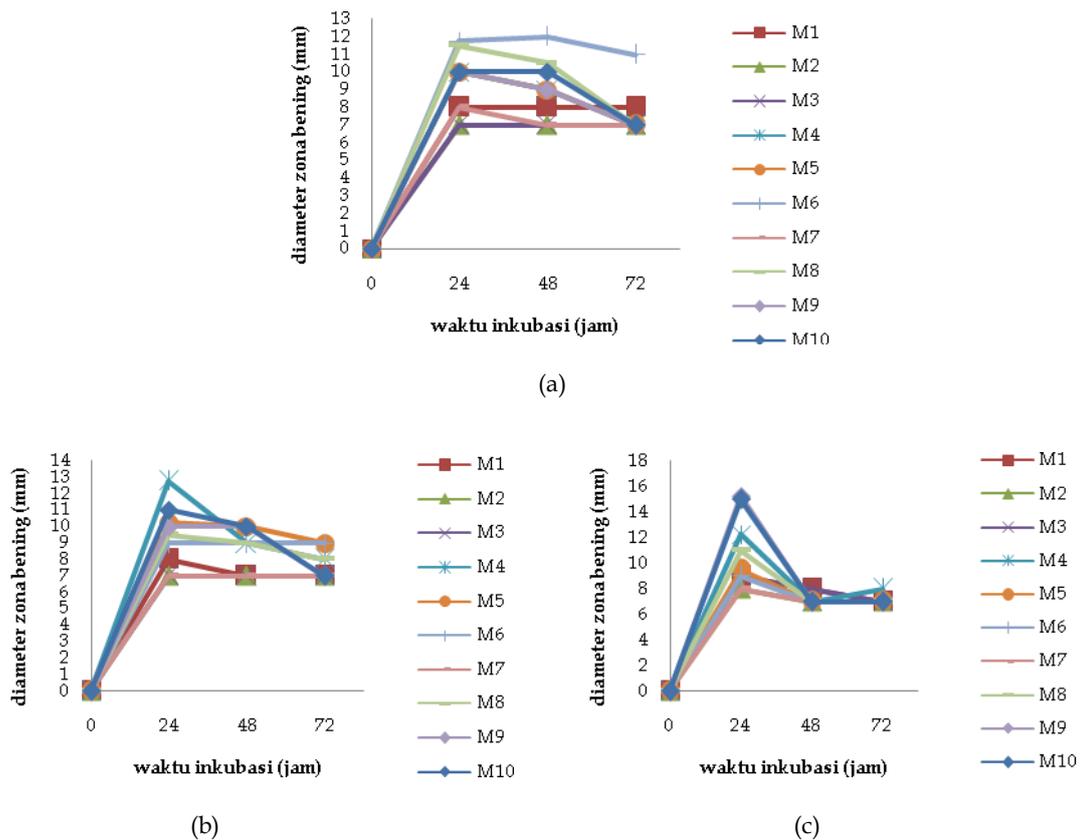
bakteri patogen uji. Sehingga dipilih satu isolat dengan rata-rata aktifitas antimikroba tertinggi yang akan dilanjutkan untuk dilihat kondisi optimum aktifitas antimikrobanya yang meliputi suhu dan pH. Isolat yang terpilih adalah M10.

Noordiana, *et al* (2013) melaporkan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasinya dari ikan salmon dan udang memiliki aktifitas antimikroba optimum yang berbeda-beda untuk setiap bakteri patogen uji. Isolat dengan aktifitas antimikroba optimum terhadap *S.typhirium* adalah bakteri asam laktat yang berasal dari udang dengan strain P1S1, namun kemampuannya terhadap *E.coli* bukanlah yang optimum dibandingkan dengan isolat lainnya.⁶ Triani (2008) juga melaporkan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasinya memiliki aktifitas antimikroba tertinggi terhadap *S.aureus*, namun aktifitas antimikrobanya terhadap *E.coli* adalah yang terkecil.¹²

Tabel 2. Aktifitas antimikroba sepuluh isolat terhadap berbagai bakteri patogen

Isolat	Diameter Zona Bening (mm)*									Rata-rata
	<i>E.coli</i>			<i>S. typhi</i>			<i>S.aureus</i>			
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	
M1	8	8	8	9	8	7	8	7	7	5,83
M2	7	7	7	8	7	7	7	7	7	5,33
M3	7	7	7	9	8	7	7	7	7	5,5
M4	10	9	7	12,25	7	8	12,75	9	8	6,56
M5	10	9	7	9,5	7	7	10,25	10	9	6,56
M6	11,75	12	11	9	7	7	9	9	9	6,98
M7	8	7	7	8	7	7	7	7	7	5,42
M8	11,5	10,5	7	11	7	7	9,5	9	8	6,71
M9	10	9	7	15,25	7	7	10	10	7	6,85
M10	10	10	7	15	7	7	11	10	7	7

*Diameter zona bening termasuk diameter kertas cakram (6 mm)



Gambar 3. Pertumbuhan daya hambat semua isolat terhadap (a) *E.coli* (b) *S. typhi* (c) *S. aureus*

Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktifitas Antimikroba

Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan sel dan juga pembentukan produk oleh mikroba. Suhu yang tinggi akan merusak ikatan hidrofobik yang terdiri dari komponen penyusun membran seperti protein dan fosfolipid, serta larutnya komponen-komponen lain yang berikatan secara hidrofilik dan hidrofobik yang terkandung di dinding sel. Hal ini akan memudahkan masuknya komponen-komponen yang tidak diharapkan ke dalam sel serta mengakibatkan keluarnya substansi sel seperti protein dan asam nukleat yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Sehingga pada suhu yang ekstrem bakteri tidak dapat tumbuh secara optimal dan kemampuannya sebagai antimikroba kurang optimal.

Optimum pertumbuhan M10 dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen

pada berbagai variasi suhu terletak pada inkubasi 24 jam (Gambar 4). Pengaruh suhu terhadap aktifitas antimikroba isolat M10 ditunjukkan pada Tabel 3. Secara umum isolat M10 memiliki aktifitas antimikroba pada rentang suhu 37-45 °C terhadap *E.coli*, *S.typhi*, dan *S.aureus*. Suhu optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap bakteri patogen uji berbeda-beda. Suhu optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap *E.coli* adalah 37 °C dan konstan selama 48 jam dengan diameter zona bening 10 mm. Suhu optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap *S.typhi* adalah 37 °C dan waktu inkubasi 24 jam dengan diameter zona bening 15 mm. Suhu optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap *S.aureus* adalah 45 °C dan waktu inkubasi 24 jam dengan diameter zona bening 18,25 mm.

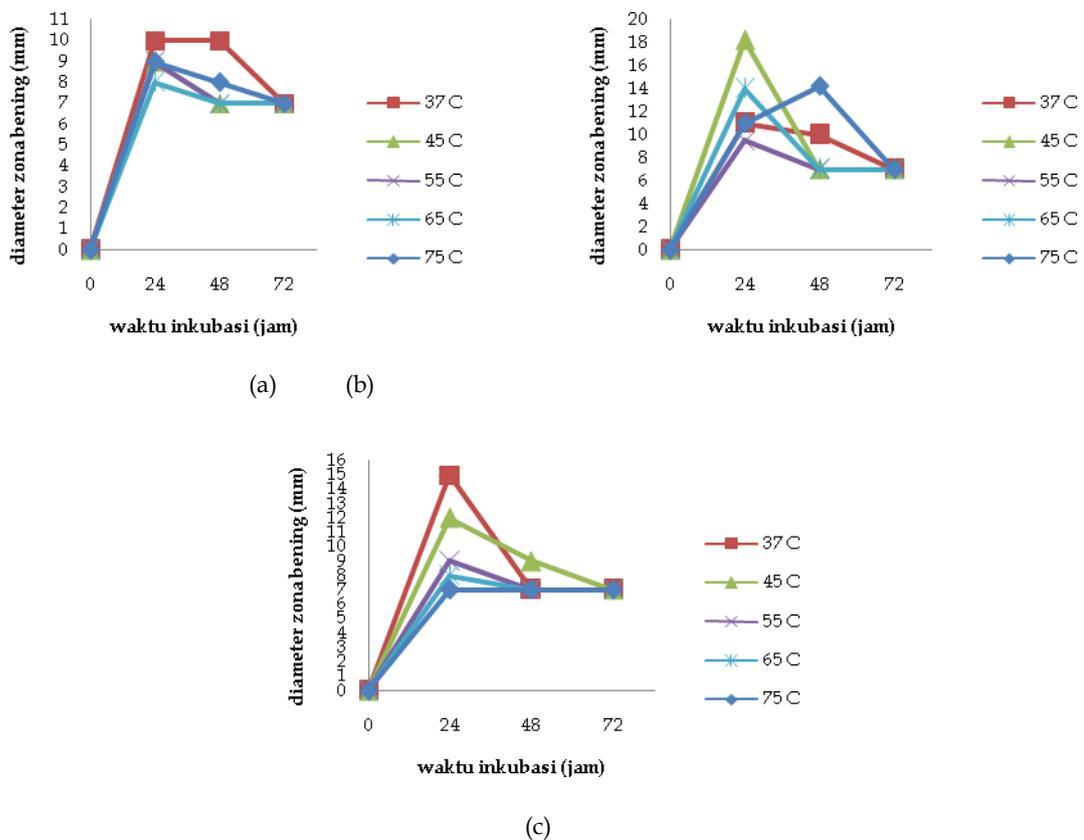
Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa suhu optimum aktifitas antimikroba bakteri asam laktat dalam menghambat *E.coli*, *S.typhi*, dan *S.aureus* bervariasi. Noordiana, *et al* (2013) melaporkan bahwa suhu

optimum aktifitas antimikroba bakteri asam laktat yang diisolasi dari udang terhadap *E.coli* adalah 80 °C, terhadap *S.typhi* adalah 80 °C dan juga melaporkan bahwa suhu 70, 85 dan 100 °C tidak menunjukkan adanya aktifitas antimikroba dari bakteri asam laktat terhadap *S.aureus*.⁵ Suhu optimum aktifitas antimikroba bakteri asam laktat *Enterococcus faecium* DU55 terhadap *S.typhi* adalah 30 °C.¹³

Tabel 3. Aktifitas antimikroba isolat M10 pada berbagai variasi suhu

Suhu (°C)	Diameter Zona Bening (mm)*								
	<i>E.coli</i>			<i>S. typhi</i>			<i>S.aureus</i>		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
37	10	10	7	15	7	7	11	10	7
45	9	7	7	12	9	7	18,25	7	7
55	9	7	7	9	7	7	9,5	7	7
65	8	7	7	8	7	7	14	7	7
75	9	8	7	7	7	7	11	14,25	7

*Diameter zona bening termasuk diameter kertas cakram (6 mm)



Gambar 4. Pertumbuhan daya hambat isolat M10 pada berbagai variasi suhu terhadap (a) *E.coli* (b) *S. typhi* (c) *S.aureus*

pH

Keasaman (pH) media merupakan salah satu parameter penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Konsentrasi ion hidrogen pada media pertumbuhan bakteri akan mempengaruhi proses bakteri tersebut dalam menghasilkan energi. Konsentrasi ion hidrogen yang berlebihan akan mengganggu membran plasma dalam mentranspor nutrisi, akibatnya proses untuk menghasilkan

energi berjalan lambat. Sehingga akan terjadi akumulasi ion hidrogen di dalam sel, kerja enzim akan terhambat dan protein akan terdenaturasi, dan akhirnya aktifitas enzim berkurang. Namun, jika konsentrasi ion hidrogen kurang, akan menyebabkan ion OH berlebih dan dapat menghalangi transpor nutrisi, sehingga energi yang dihasilkan sedikit dan aktifitas enzim sedikit.

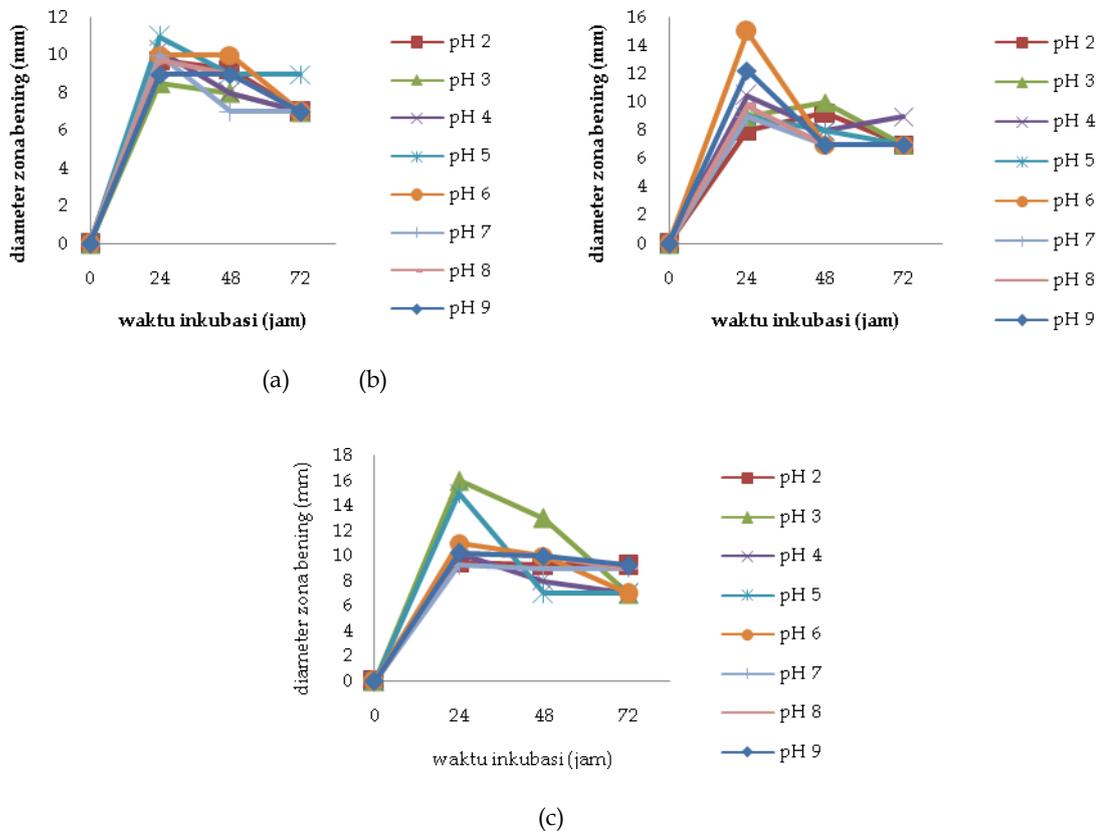
Optimum pertumbuhan M10 dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada berbagai variasi pH terletak pada inkubasi 24 jam (Gambar 5). Secara umum, M10 menunjukkan aktifitas antimikroba pada rentang pH 2-9 (Tabel 4). Keasaman (pH) optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap *E.coli* adalah 5 dan waktu inkubasi

24 jam dengan diameter 11 mm. Keasaman (pH) optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap *S.typhi* adalah 6 dan waktu inkubasi 24 jam dengan diameter 15 mm. Keasaman (pH) optimum aktifitas antimikroba M10 terhadap *S.aureus* adalah 3 dan waktu inkubasi 24 jam dengan diameter 16 mm.

Tabel 4. Aktifitas antimikroba isolat M10 pada berbagai variasi pH

pH	Diameter Zona Bening (mm)*								
	<i>E.coli</i>			<i>S. typhi</i>			<i>S.aureus</i>		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
2	9,75	9,25	7	8	9,25	7	9,5	9,25	9,25
3	8,5	8	7	9	10	7	16	13	7
4	10,25	8	7	10,5	8	9	10,25	8	7
5	11	9	9	9	8	7	15	7	7
6	10	10	7	15	7	7	11	10	7
7	10	7	7	9	7	7	9,25	9	9
8	9,75	9	7	9,75	7	7	10,25	10	9
9	9	9	7	12,25	7	7	10,25	10	9,25

*Diameter zona bening termasuk diameter kertas cakram (6 mm)

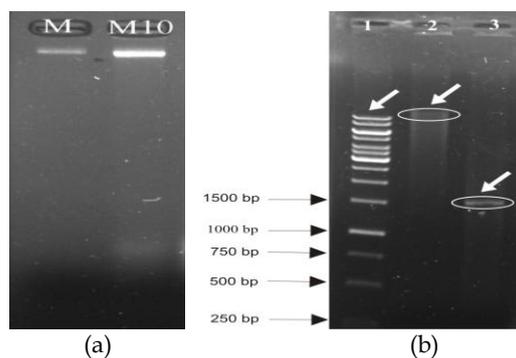


Gambar 5. Pertumbuhan daya hambat M10 pada berbagai variasi pH terhadap (a). *E.coli* (b) *S.typhi* (c) *S.aureus*

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pH optimum aktifitas antimikroba bakteri asam laktat dalam menghambat *E.coli*, *S.typhi*, dan *S.aureus* adalah bervariasi. Bakteri asam laktat, *L.sakei*, memiliki pH optimum aktifitas antimikroba pada keasaman 3,5. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari udang memiliki pH optimum aktifitas antimikroba terhadap *E.coli* pada keasaman 6 sedangkan terhadap *S.typhi* pada keasaman 3, serta bakteri asam laktat yang diisolasi dari ikan salmon memiliki pH optimum aktifitas antimikroba terhadap *E.coli* dan *S.typhi* pada keasaman 6.⁵

Isolasi DNA

Berdasarkan data penelitian (Gambar 6.a), intensitas terang DNA M10 yang dicek dengan elektroforesis dan divisualisasikan di bawah sinar UV adalah empat kali intensitas terang Marker. Konsentrasi Marker adalah 50 ng/ μ L, maka konsentrasi DNA M10 adalah 200 ng/ μ L.



Gambar 6. Hasil elektroforesis (a) isolasi DNA M10. M = Marker 50 ng/ μ L (b) Hasil Purifikasi amplifikasi 3 DNA M10. M = Marker 50 ng/ μ L

Amplifikasi Gen 16S rRNA

Hasil isolasi DNA M10 diencerkan menjadi 79 ng/ μ L untuk digunakan sebagai *template* reaksi PCR dengan menggunakan 5 pmol/ μ L primer 27F-1525R. Pengenceran bertujuan untuk mendapatkan hasil PCR yang optimum.

Hasil purifikasi hasil PCR dapat dilihat pada Gambar 6.b. Penentuan konsentrasi isolat M10 hasil purifikasi dilakukan dengan cara membandingkan intensitas terang terhadap Marker yang telah diketahui

konsentrasinya. Konsentrasi Marker adalah 50 ng/ μ L dengan volume yang digunakan adalah sebanyak 2 μ L. Intensitas terang isolat M10 adalah dua kali intensitas terang Marker dengan volume M10 yang digunakan adalah 5 μ L. Maka konsentrasi pemurnian DNA M10 adalah 40 ng/ μ L dengan kisaran produk yang diperoleh adalah antara 1000 sampai 1500 bp.

IV. Kesimpulan

Bakteri asam laktat yang didapatkan dari isolasi fermentasi markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) berjumlah 10 isolat, dengan kode M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, dan M10. Morfologi koloninya berbentuk bundar, berwarna putih-susu, bakteri Gram positif, serta berbentuk basil untuk M2, M4, M5, M6, M7, M8, dan M9, dan kokkus untuk M1, M3, dan M10. Isolat M10 memiliki aktifitas antimikroba pada rentang suhu 37-75 °C dan pH 2-9, dengan kondisi optimum terhadap *E.coli* adalah 37 °C dan pH 5, terhadap *S.typhi* adalah 37 °C dan pH 6, dan terhadap *S.aureus* adalah 45 °C dan pH 3. Kisaran produk amplifikasi DNA M10 adalah sekitar 1000 sampai 1500 bp.

V. Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada analis dan teknisi serta teman-teman di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia dan Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Andalas.

Referensi

1. Karsinah, R. C., Hutabarat, dan A. Manshur, 2010, Markisa Asam (*Passiflora edulis* Sims) Buah Eksotik Kaya Manfaat, *Iptek Hortikultura No. 6 – Agustus*, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
2. Muchtadi, T. R., Ayustaningwarno, F., 2010, Teknologi Proses Pengolahan Pangan, Bandung: Alfabeta
3. Karthikeyan, V., and Santosh, W., 2009, Isolation and Partial Characterization of Bacteriocin Produced from *Lactobacillus plantarum*
4. Abegaz, K., 2007, Isolation, Characterization, and Identification of Lactic Acid Bacteria Involved in

- Traditional Fermentation of *borde*, an Ethiopian Cereal Beverage, *African Journal of Biotechnology Vol. 6 (12)*, pp 1469-1478
5. Noordiana, N. Fatimah, A. B., and Mun, A. S., **2013**, Antibacterial Agents Produces by Lactic Acid Bacteria Isolated from Threadfin Salmon and Grass Shrimp, *International Food Research Journal* 20(1): 117-124
 6. Misgiyarta, S. dan Widowati, **2005**, Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
 7. Tentang Pengolahan Pangan, Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, <http://www.ristek.go.id> [2 Februari 2012]
 8. Widya, D. R. P., Haryadi, Djagal, W. M., and M. N. Cahyanto, **2012**, Isolation and Characterization of Amylolytic Lactic Acid Bacteria during Growol Fermentation, an Indonesian Traditional Food, *Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 13 No. 1 [April 2012]* 52-60
 9. Surono, I., **2004**, Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan, PT. Zitri Cipta Karya
 10. Astawan, M., **2009**, Sehat Dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian, Penebar Swadaya: Jakarta
 11. Zahirotul, H. H., **2006**, Isolasi *Lactobacillus*, Bakteri Asam Laktat dari Feses dan Organ Saluran Pencernaan Ayam, *Seminar Nasional Teknologi dan Veteriner*
 12. Triani, W., **2008**, Aktivitas Substrat Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Daging Sapi terhadap Bakteri Patogen dan Konsentrasi Minimum Penghambatannya, *Institut Pertanian Bogor*
 13. A. Rahman, R., A. Rauf, P., Tjodi, H., M. Natsir, D., Haslia, dan Mahsalia, **2009**, Produksi Senyawa Bakteriosin secara Fermentasi Menggunakan Isolat BAL *Enterococcus faecium* DU55 dari Dangke

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI DNA BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIMIKROBA DARI FERMENTASI KAKAO VARIETAS HIBRID (TRINITARIO)

Yulia Delfahedaha^a, Sumaryati Syukur^b, Jamsari^c

^{a,b}Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

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

e-mail: sumaryatisyukur@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Nine isolates of lactic acid bacteria from chocolate powder of fermented cacao hybrid; H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8 and H9; have been isolated and characterized by morphologically. The results showed that nine isolates had character: colony circular, convex, broken white and Gram-positive bacteria with rod cell. *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, and *Staphylococcus aureus* have been used as pathogen indicators for antimicrobial of all isolates. H9 has the highest antimicrobial activity for *Salmonella typhi* (10,5 mm) and *Staphylococcus aureus* (18 mm). The potential isolat H9 were measured at temperature between 37°-75°C and pH between 2-9. Antimicrobial activity of H9 against *E. coli* optimum at 45°C and pH 3, against *Salmonella typhi* optimum at 45°C and pH 5 and against *Staphylococcus aureus* optimum at 37°C with pH 6. The result of DNA isolation and amplification with 16S rRNA gene and primers 27F-1525R showed that PCR product of H9 was about 1500 bp.

Keywords: cacao hybrid, lactic acid bacteria, antimicrobial activity, DNA isolation of LAB

I. PENDAHULUAN

Teknologi fermentasi merupakan salah satu cara pengolahan dan pengawetan makanan, baik secara konvensional maupun modern, dengan memanfaatkan mikroba baik langsung maupun tidak langsung. Dalam proses fermentasi, mikroba maupun enzim yang dihasilkan dapat menstimulir rasa yang spesifik, meningkatkan nilai cerna bahan pangan, menurunkan kandungan anti gizi atau bahan lain yang tidak dikehendaki, dan dapat menghasilkan produk atau senyawa turunan yang bermanfaat bagi kehidupan manusia.¹

Pentingnya fermentasi pada biji kakao dikarenakan pada proses ini dihasilkan calon senyawa aroma khas cokelat. Selain itu selama proses ini terjadi penurunan kadar polifenol yang dapat menurunkan rasa kelat.

Kandungan fruktosa, sukrosa dan glukosa yang tinggi pada buah kakao menjadi media yang cocok untuk pertumbuhan mikroba sehingga pada proses fermentasi dihasilkan salah satu mikroorganisme yaitu bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat. BAL merupakan jenis bakteri yang umumnya menguntungkan. Secara umum, bakteri asam laktat merupakan *food-grade organisms*. Bakteri tersebut dapat memberikan citarasa pada makanan, menghambat bakteri pembusuk pada makanan dan juga dapat menghambat bakteri patogen.⁴

Salah satu sifat penting dari bakteri asam laktat adalah mampu menghasilkan senyawa antimikroba bakteriosin. Bakteriosin merupakan produk metabolit sekunder bakteri asam laktat yang mempunyai kesamaan kerja seperti antibiotik, yaitu mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri tertentu.

Berdasarkan hal di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang bakteri asam laktat yang dihasilkan dari fermentasi biji kakao varietas hibrid (Trinitario) yang diisolasi dari bubuk coklat meliputi, uji antimikroba terhadap bakteri patogen, karakterisasi dan identifikasi bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas tertinggi dalam menghambat bakteri patogen.



Gambar 1. Buah kakao hibrid

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Kakao hibrid (Trinitario), MRS Agar (Merck), MRS Broth (Merck), Nutrien Agar (Merck), asam klorida (HCl, Merck), natrium hidroksida (NaOH, Merck), akuades (H_2O), natrium klorida (NaCl, Merck) bakteri uji (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Escherichia coli*), gliserol ($C_3H_8O_3$), akuabides (ddH_2O), buffer 1 x Tris EDTA (TE), Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) ($NaC_{12}H_{25}SO_4$) 10 %, proteinase K 10 mg/ μ l, phenol : chloroform ($C_6H_5OH:CHCl_3$) (1:1), natrium asetat ($NaCH_3OOH$) 3 M, isopropanol (C_3H_8O), etanol (C_2H_5OH) 70 %, agarose (Vivantis), buffer 0,5xTBE (Tris-Boric-EDTA), etidium bromida (EtBr) ($C_{21}H_{20}BrN_3$), 10xBPB (Bromo Phenol Blue) ($C_{19}H_{10}Br_4O_5S$), primer 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan 1525R (5'-AAGGAGGTGWTCARCC-3'),

safranin ($C_{20}H_{19}N^{+}.Cl^{-}$), iodin (I), kristal violet ($C_{25}N_3H_{30}Cl$), RTG-PCR bead.

Peralatan yang digunakan adalah *hot plate magnetic stirrer, vortex* (Heidolph Reax Control), pipet mikro (Rainin Pipet One), mesin PCR (Biometra® TPersonal), elektroforesis (Advance Mupid-exu), sentrifus (Sigma Sartorius), gel dokumentasi (Biodoc Analyze Biometra), neraca analitik Kern ABJ, pH meter, autoklaf (Tomy SX-300), mikroskop (Zeiss Primostar), incubator (Memmerz).

2.2. Prosedur penelitian

Fermentasi Biji Kakao Hibrid

Fermentasi dilakukan dalam keadaan steril dengan menggunakan pembungkus dan tempat steril. Sampel kakao varietas hibrid di kupas dan bijinya dibungkus dengan steril. Kemudian difermentasi selama 72 jam secara anaerob pada suhu ruang.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat diisolasi dari bubuk hasil fermentasi biji kakao hibrid yang telah difermentasi selama 72 jam. Proses isolasi BAL diawali dengan proses *enrichment*, dimana 1 g sampel bubuk biji dimasukkan ke dalam 9 mL MRS Broth (Merck), lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} kemudian di inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Setelah inkubasi, sampel diencerkan menggunakan media pepton *water* (Merck) di dalam tabung *Eppendorf*. Pengenceran dilakukan secara bertingkat sampai 10^{-9} , dengan cara 100 μ L dari *enrichment* atau pengenceran 10^{-1} ditambahkan ke dalam tabung *Eppendorf* yang berisi 900 μ L pepton *water* sehingga didapat pengenceran 10^{-2} , selanjutnya diambil 100 μ L dari pengenceran 10^{-2} ditambahkan ke dalam tabung *Eppendorf* yang berisi 900 μ L pepton *water* sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3} dan seterusnya hingga didapatkan pengenceran 10^{-9} .

Kemudian dilakukan proses *plating*, kultur dari pengenceran 10^{-9} diinokulasikan pada media MRS Agar (Merck), diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni BAL tunggal yang tumbuh pada permukaan media dimurnikan kembali dengan cara menginokulasikan koloni ke dalam media MRS Agar (Merck) secara gores dan diinkubasi secara anaerob pada suhu 37 °C selama 48 jam.

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

A. Identifikasi Morfologi BAL

Kegiatan identifikasi morfologi BAL dilakukan dengan dua cara, yaitu identifikasi makroskopik dan mikroskopik. Identifikasi makroskopik yang diamati adalah bentuk, warna, dan ukuran koloni BAL yang tumbuh pada media MRS Agar sedangkan identifikasi mikroskopik yaitu bentuk sel dengan pewarnaan Gram

B. Uji Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan terhadap tiga bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri asam laktat ditumbuhkan dalam media 10 mL MRS

broth di inkubasi selama 24 jam. Bakteri asam laktat diujikan dengan bakteri indikator yang telah ditumbuhkan selama 24 jam pada media LB (Luria Bertani) suhu 37°C. Uji Antimikroba dengan menggunakan metoda Kirby-Bauer dengan cara bakteri indikator dioleskan merata pada permukaan NA dengan menggunakan *cottonbud*, kemudian pada kertas cakram dicelupkan bakteri asam laktat dan ditanam pada permukaan NA yang telah diolesi bakteri indikator. Zona bening yang terbentuk diamati pada jam ke 24, 48 dan 72. Isolat dengan zona hambat tertinggi dilakukan pengujian ketahanan terhadap berbagai variasi pH dan suhu.

Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktifitas Antimikroba

A. pH

Pengujian resistensi terhadap pH dilakukan pada beberapa variasi pH media MRS Broth yaitu pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9 (menggunakan HCl 1N dan NaOH 1 N sebagai pengatur pH). Isolat terpilih diinkubasi pada media MRS Broth dengan berbagai yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C secara anaerob. Kultur yang terbentuk akan dilakukan uji antimikroba dengan metoda Kirby-Bauer seperti dijelaskan pada prosedur uji antimikroba.

B. pH

Pengujian resistensi terhadap suhu dilakukan pada beberapa variasi suhu inkubasi kultur bakteri asam laktat, yaitu 37, 45, 55, 65, dan 75 °C. Isolat terpilih diinkubasi pada MRS Broth selama 24 jam pada suhu 37, 45, 55, 65, dan 75 °C secara anaerob. Kultur yang terbentuk akan dilakukan uji antimikroba dengan metoda Kirby-Bauer seperti dijelaskan pada prosedur uji antimikroba.

Isolasi DNA

Isolat BAL diinokulasikan dalam media 10 mL media MRS Broth dan diinkubasi secara anaerob selama 2 jam. Kultur BAL disentrifus sebanyak 6 mL pada suhu 4 °C selama 5 menit, dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan dibuang, kemudian pelet sel yang

diperoleh ditambahkan 500 μL 1 \times TE, 50 μL SDS 10 % dan 5 μL proteinase K 10 mg/mL dan divoeteks. Diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam. Ditambahkan 600 μL larutan fenol : kloform (P:C) (1:1), disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Lapisan atas dipindahkan ke tabung Eppendorf baru, ditambahkan 600 μL PC, dibolak balik, disentrifus 14.000 rpm selama 5 menit. Lapisan atas dipindahkan ke tabung Eppendorf baru, tambahkan dengan natrium asetat 3 M sebanyak 1/10 dari volume yang ada kemudian tambahkan isopropanol sebanyak 6/10 volume yang ada, lalu dibolak balik dan disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan dibuang dan pelet DNA dicuci dengan dengan 100 μL etanol 70% dingin, dikering anginkan. Setelah kering larutkan pellet DNA dengan 1 \times TE sebanyak 25 μL .

Amplifikasi Gen 16S Rrna

DNA diamplifikasi menggunakan PCR 30 siklus. Primer yang digunakan :

27F : AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG
M = C; A

1525R : AAG GAG GTG WTC CAR CC
W = A; T

Bahan-bahan yang digunakan untuk satu sampel dalam reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah 20 μL ddH₂O, 3 μL primer mix 27F-1525R 5pmol/ μL , RTG (*Ready to Go*) PCR bead, dan 2 μL templet DNA. Dengan kondisi PCR: denaturasi awal 94 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit, denaturasi 94 $^{\circ}\text{C}$ selama 1 menit, *annealing* 57 $^{\circ}\text{C}$ selama 1 menit, ekstensi 72 $^{\circ}\text{C}$ selama 1 menit dan *final extension* 72 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit sebanyak 30 siklus. Produk PCR dianalisa dengan elektroforesis.

Elektroforesis

Sebanyak 25 μL produk PCR ditambah dengan 1,5 μL BPB (*Bromo Phenol Blue*) dielektroforesis pada 100 V selama 30 menit dengan 1 % agarose gel. Sebagai marker digunakan 1 kb DNA Ladder (Takara) dan DNA lambda 50 ng/ μL . Gel kemudian divisualisasikan dibawah lampu ultraviolet setelah ditambahkan etidium bromida.

III. Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Kakao Hibrid

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya perubahan pH selama proses fermentasi kakao hibrid, yaitu dari 4 menjadi 3,5. Hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi menghasilkan asam-asam organik yang merupakan hasil hidrolisis senyawa kompleks seperti karbohidrat, asam lemak dan juga sebagai hasil aktivitas pertumbuhan bakteri yang menghasilkan asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂.

Jumlah koloni bakteri asam laktat yang dihasilkan pada pengenceran 10⁻⁹ adalah 6,5 \times 10¹⁰ CFU/g. Hasil ini sesuai dengan ketentuan pangan probiotik menurut FAO/WHO bahwa penambahan pangan probiotik harus memperhatikan kesehatan inang tempat bakteri hidup konsentrasi itu berkisar antara 10⁶- 10⁷ CFU/mL tujuan ini agar terjadi keseimbangan mikroflora di usus.¹⁵

Bakteri asam laktat yang terisolasi dilanjutkan ke tahap pemurnian untuk mendapatkan bakteri asam laktat yang lebih murni. Dari hasil pemurnian ini diperoleh sembilan isolat BAL yaitu H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8 dan H9.

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi dilakukan terhadap 9 isolat dengan cara makroskopik dan mikroskopik. Secara makroskopik pengamatan meliputi ukuran koloni, bentuk koloni, permukaan koloni, dan warna koloni yang dapat dilihat pada Tabel 1. Sedangkan secara mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk mengamati bentuk sel bakteri. Identifikasi BAL secara makroskopik pada medium MRS agar terlihat bentuk koloni pada umumnya bulat dan bundar, dengan ukuran koloni bervariasi, permukaan koloni berbentuk cembung dengan tepian licin, berwarna putih susu dan putih kekuningan. Sebelumnya identifikasi morfologi BAL juga telah dilakukan pada penelitian sebelumnya dari fermentasi buah sirsak dan pulp kakao hibrid bahwa morfologi koloni BAL yang didapatkan berbentuk bulat dan bundar,

dengan ukuran koloni rata-rata \pm 2-4 mm, permukaan koloni berbentuk cembung dengan tepian licin, berwarna putih susu.^{15, 16} Identifikasi mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan Gram. Identifikasi dengan pewarnaan Gram ini mengelompokkan

bakteri berdasarkan reaksi kimia, dimana pewarnaan Gram ini akan membagi bakteri menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif, perbedaan ini disebabkan karena lapisan dinding sel bakteri juga berbeda.

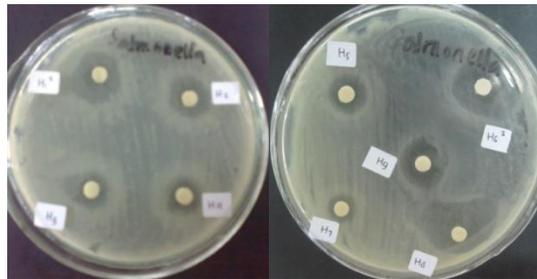
Tabel 1. Identifikasi bakteri asam laktat secara makroskopis dan mikroskopis

No.	Kode Isolat	Warna koloni pada media agar	Warna sel	Gram	Bentuk sel
1.	H1	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
2.	H2	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
3.	H3	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
4.	H4	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
5.	H5	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
6.	H6	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
7.	H7	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
8.	H8	Putih susu	Ungu	Positif	Basil
9.	H9	Putih susu	Ungu	Positif	Basil

Uji Antimikroba

Hasil uji penghambatan pertumbuhan bakteri indicator *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram menunjukkan kesembilan isolat memperlihatkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri indikator, ditandai

dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram dengan ukuran yang bervariasi. Gambar zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar. 1. Zona hambat ke-9 isolat terhadap *Salmonella typhi*, A. Isolat H1, H2, H3, H4 dan B. Isolat H5, H6, H7, H8, H9

Kemampuan sembilan isolat bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri indikator patogen berbeda-beda. Isolat yang paling potensial dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* adalah isolat H5 dengan diameter zona bening sebesar 9,5 mm. sedangkan isolat H9 adalah isolat yang paling potensial dalam menghambat pertumbuhan

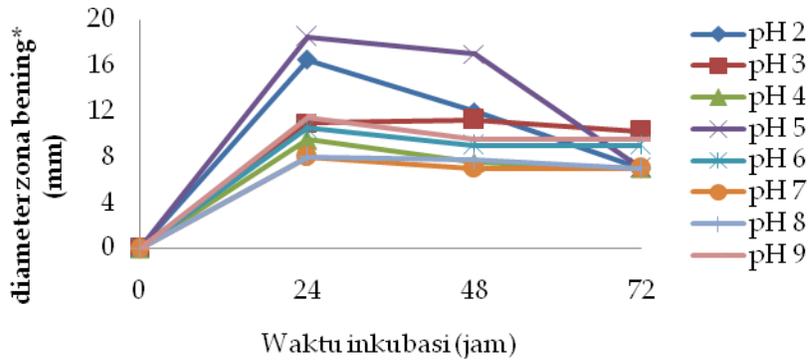
bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona bening berturut-turut adalah 10,5 mm dan 18 mm. dari uji antimikroba ini dipilih isolate H9 sebagai isolate potensial yang dilanjutkan uji resistensi terhadap pH dan suhu.

Pengaruh pH dan Suhu terhadap Aktifitas Antimikroba

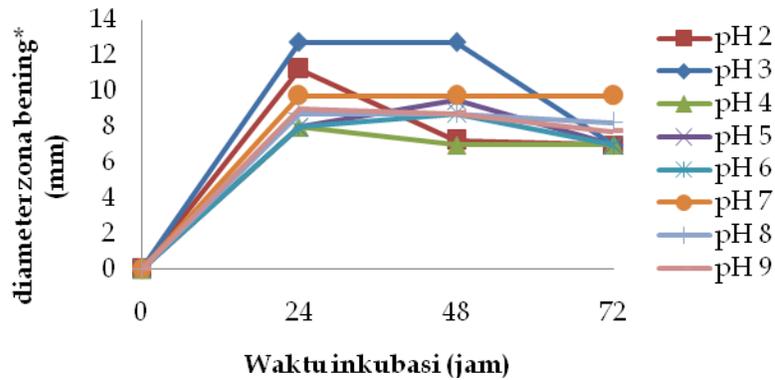
A. pH

Uji resistensi terhadap pH dilakukan dengan rentang pH 2,0 sampai 9,0. Hal ini bertujuan untuk melihat pertumbuhan bakteri dalam menghasilkan senyawa antimikroba bakteriosin yang lebih banyak sehingga lebih efektif dalam menghambat bakteri yang

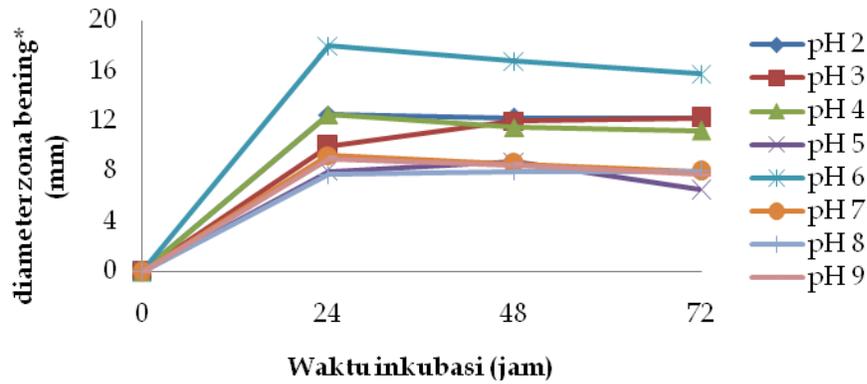
bersifat patogen, yang dapat dilihat dari luas zona bening yang dihasilkan, karena pH adalah salah satu faktor penting dalam memengaruhi pertumbuhan bakteri dan kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Hasil uji resistensi isolate H9 terhadap pH dapat dilihat pada kurva.



Gambar 3. Daya hambat H9 terhadap bakteri *Salmonella typhi* pada pH 2,0 - 9



Gambar 4. Daya hambat isolat H9 terhadap bakteri *Escherichia coli*

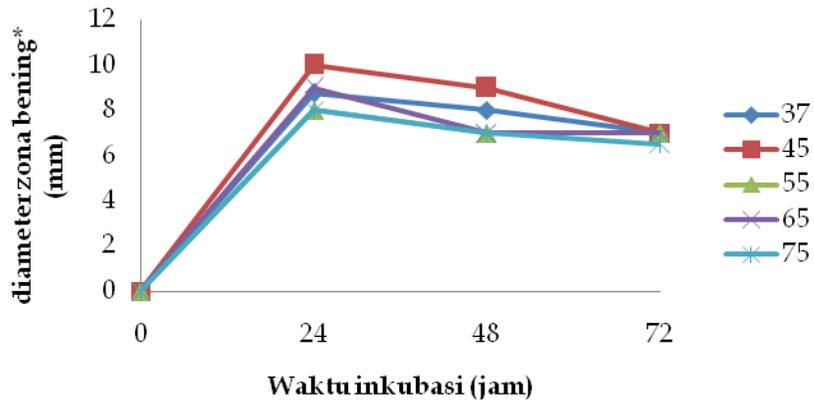


Gambar 5. Daya hambat isolat H9 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
Keterangan : * Besarnya diameter zona hambat termasuk diameter kertas cakram (6 mm)

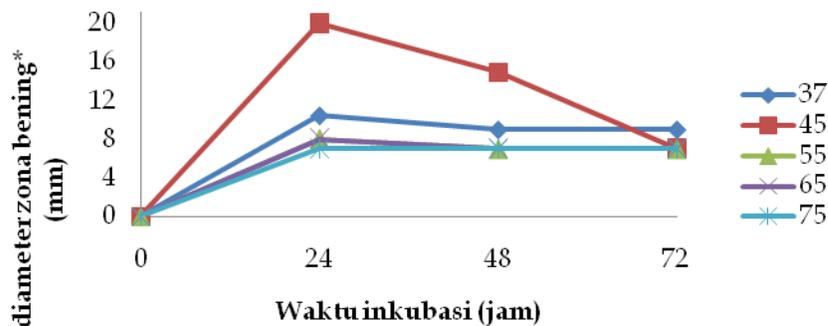
Suhu

Tujuan tahap penelitian ini adalah untuk mengetahui ketahanan isolat H9 pada berbagai suhu yaitu 37°, 45°, 55°, 65° dan 75°C. Uji resistensi terhadap suhu ini juga dilakukan

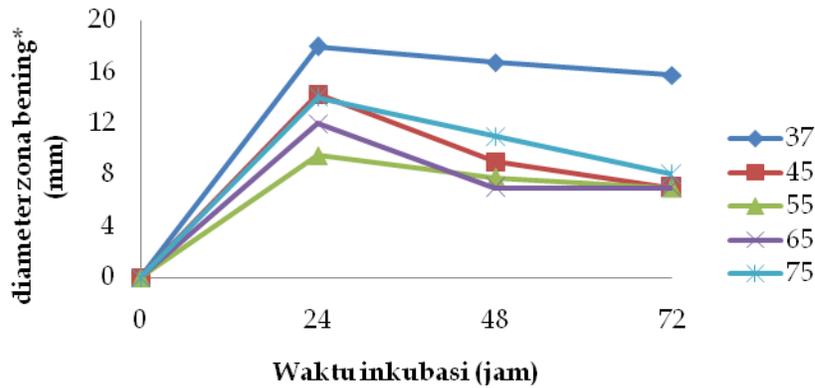
pada 3 bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Diameter penghambatan terhadap resistensi suhu ini dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Daya hambat isolat H9 terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan variasi suhu

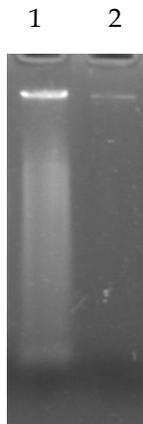


Gambar 7. Daya hambat isolat H9 terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan variasi suhu



Gambar 8. Daya hambat isolat H9 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi suhu
Keterangan : * Besarnya diameter zona hambat termasuk diameter kertas cakram (6 mm)

Secara keseluruhan dapat dilihat bahwa aktivitas senyawa antimikroba yang dihasilkan isolat H9 masih ada meskipun diberi perlakuan dengan suhu inkubasi yang lebih tinggi. Ketahanan bakteriosin terhadap panas terkait dengan struktur molekul bakteriosin yang merupakan peptida sederhana tanpa struktur tersier. Kestabilan senyawa antimikroba terhadap panas berkaitan dengan bentuk struktur globular yang sederhana dan adanya daerah yang sangat hidrofobik, ikatan silang yang stabil, dan tingginya kandungan glisin.^{24, 25}



Gambar 9. Hasil elektroforesis isolasi DNA (1 = H9, 2 = Marker DNA Lambda 50= 50 ng/ μ L)

Isolasi DNA

Hasil isolasi DNA isolat H9 menunjukkan konsentrasi 2 kali Lambda 50 (50 ng/ μ L), berarti untuk setiap μ L nya ada 100 ng (dapat dilihat pada Gambar 2). Pada prinsipnya produk isolasi DNA yang diperoleh menunjukkan kualitas dan kuantitas yang cukup baik, sehingga hasil isolasi DNA yang diperoleh dapat dilanjutkan dengan amplifikasi PCR dengan primer 27F dan 1525R.

Amplifikasi Gen 16S rRNA

Hasil isolasi DNA H9 diencerkan menjadi 50 ng/ μ L untuk digunakan sebagai *template* DNA pada reaksi PCR dengan menggunakan primer 27F-1525R. Program PCR yang digunakan adalah denaturasi awal (95 °C) 5 menit, denaturasi (94 °C) 1 menit, *annealing* (57 °C) 1 menit, *extantion* (72 °C) 1 menit 30 detik, *final extantion* (72 °C) 5 menit, dan *pause* (8°C), sebanyak 30 siklus. Kemudian dilakukan elektroforesis untuk melihat kualitas DNA yang telah diamplifikasi. Setelah dilakukan elektroforesis, diperoleh fragmen tunggal dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil elektroforesis amplifikasi gen 16S rRNA (1= H9, 2= Marker, 1 kb Ladder)

Hasil elektroforesis pada gambar 10 menunjukkan bahwa DNA bakteri yang berasal dari isolat H9 telah berhasil diamplifikasi dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan primer universal 27F dan 1525R dengan produk PCR sekitar 1500 bp. Hasil amplifikasi ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dimana primer universal ini digunakan untuk mengamplifikasi DNA bakteri asam laktat yang berasal dari fermentasi sirsak dan menghasilkan produk 1500 bp.²⁸

IV. Kesimpulan

Sembilan isolat bakteri asam laktat dari fermentasi kakao telah diisolasi dari bubuk biji yang memiliki kemampuan antimikroba yaitu H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8 dan H9 dengan diameter zona bening tertinggi sebesar 18 mm. Isolat H9 merupakan isolat unggul dengan aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* optimum pada 45°C dengan pH 3, terhadap *Salmonella typhi* optimum pada 45°C dengan pH 5, serta terhadap *Staphylococcus aureus* optimum pada 37°C dengan pH 6. Hasil isolasi dan amplifikasi DNA dengan gen 16S rRNA dan primer 27F-1525R menunjukkan produk PCR isolat bakteri H9 berada pada 1500 bp.

V. Ucapan terimakasih

Terimakasih kepada analis Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman

Faperta, Universitas Andalas.

Referensi

1. Misgiyarta, S dan Widowati, **2005**, Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus, *Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian*, Bogor
2. S. Ambardini, Perubahan Kadar Lemak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Melalui Fermentasi beberapa Isolat Khamir, Universitas Haluleo, Makassar.
3. M. M. Ardhana and Graham H. Fleet, **2003**, The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 87-99.
4. Antara, N. S., **2004**, Peranan Bakteri Penghasil Bakteriosin Dalam Fermentasi Urutan, *Seminar Nasional Probiotik dan Prebiotik Sebagai Makanan Fungsional*. Denpasar, 30 Agustus 2004.
5. Rostini, I., **2004**, Peranan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus plantarum*) terhadap Masa Simpan Filet Nila Merah pada Suhu Rendah. *Tesis Master Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan*, Universitas Padjajaran.
6. Santi, R., Ratnadewi I. A, dan Sudirja, R., **2007**, Pengaruh Pupuk Organik dan Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.), *Kultivar Upper Amazone*
7. Hybrid. Laporan Penelitian Peneliti Muda (Litmud) Unpad. Fakultas Pertanian. Universitas Padjadjaran
8. Syukur, S., Utami, L. S., Purwati, E., Urnemi dan Jamsari, **2011**, Screening And Invitro Antimicrobial, Protease Activities From Lactic Acid Bacteria Associated With Green Cacao Fermentation in West Sumatra, Indonesia, *Proseding Seminar Internasional HKI*, Pekanbaru, 17-21
9. Pato, U., **2003**, Potensi Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker. *Jurnal Natur Indonesia*, 5(2): 162-166.
10. J. Cleveland, Thomas J. Montville, Ingolf F. Nes, Michael L. Chikindas, **2001**, Bacteriocins: safe, natural

- antimicrobials for food preservation, *International Journal of Food Microbiology*, 71: 1-20.
11. Afriani, 2010, Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 8 (6) : 279-285
 12. Salminen, S., Atte von Wright and Ouwehand, A., 2004, Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects, Third Edition, Revised and Expanded. United States: Marcel Dekker, Inc.
 13. Bahri, S., 2008, Keragaman Genetik *Bacillus* sp. Rhizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman Berdasarkan Sekuens Gen 16S rRNA dan Amplified rDNA Restriction Analysis, *Skripsi Sarjana Biologi*, Institut Pertanian Bogor.
 14. Pangastuti, A., 2006, Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Biodiversitas*, 7(3) : 292-296.
 15. Nur, H. S., 2005, Pembentukan Asam Organik oleh Isolat Bakteri Asam Laktat pada Media Ekstrak Daging Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Bioscientiae*, Volume 2, Nomor 1: 15-24.
 16. Utami, D. A., 2011, Karakterisasi Molekuler Bakteri Asam Laktat (BAL) Probiotik Dengan Gen 16S rRNA yang Berpotensi Menghasilkan Bakteriosin dari Fermentasi Sirsak (*Annona Maricata* .L) di Sumatera Barat. *Tesis Kimia*, Pascasarjana Universitas Andalas.
 17. Yusdi, S.S., 2011, Produksi Bakteriosin dan Karakterisasi Molekuler Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan 16S rRNA yang Berpotensi Sebagai Probiotik pada Fermentasi Kakao Varietas Hibrid (*Trinitario*) di Sumatera Barat, *Tesis Kimia*, Pascasarjana Universitas Andalas.
 18. Widiada, I. G. N., 2008, Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Indigenous Hasil Isolasi dari Susu Kuda Liar. *Jurnal Kesehatan* volume 2, No. 2 : 304-309
 19. Fardiaz, S., 1992, Mikrobiologi Pangan 1, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
 20. Hidayat, H., 2011, Karakterisasi Molekuler Bakteri Asam Laktat (BAL) Dengan Gen 16S rRNA Penghasil Enzim Protease yang Berpotensi sebagai Probiotik dari Fermentasi Markisa Kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*), Tesis Kimia, Universitas Andalas.
 21. Farzana, K., Shah, S. N., H., Jabeen, F., and Batool, S., 2004, Antibiotic Resistance Pattern Against Various Isolats Of *Staphylococcus aureus* From Milk Products Khoya And Burfi, *Journal of Research (Science)*, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan. Vol.15, No.4, 419-427
 22. Mallesha, R. Shylaja, D. Selvakumar and Jagannath, J. H., 2010, Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw And Fermented Products and Their Antibacterial Activity, *Recent Research in Science and Technology*, 2(6): 42-46
 23. Januarsyah, T, 2007, Kajian Aktivitas Hambat Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Galur SCG 1223. Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
 24. Sarkono, Faturrahman dan Sofyan, Y., 2010, Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari induk abalon (*Haliotis asinina*) yang berpotensi sebagai kandidat probiotik. *Bioteknologi* 7 (2): 99-106.
 25. Chaimanee, V., Sakulsingharoj, C., Deejing, S., Seetakoses, P., and Niamsup, P., 2009, Screening and Characterisation of bacteriocin-Producing Bacteria Capable of Inhibiting the Growth of Bovine Mastitis. *Maejo Int. J. Sci. Technol*, 3(01), 43-52
 26. Usmiati, S., dan Rahayu, W. P., 2011, Aktivitas Hambat Bubuk Ekstrak Bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. Galur SCG 1223. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
 27. Jamsari, 2007, Bioteknologi Pemula Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler, *Unri Press*, Riau.

28. Grompe, M., Johnson, W., and Jameson, L. J., **1998**, Principles of Molecular Medicine, Totowa, NJ, Humana Press Inc.
29. S. Syukur, Della Amelia Utami dan Abdi Darma. 2011. *Isolasi, Karakterisasi Molekuler Bakteri Asam Laktat dan Penentuan Protein Antimikroba Bakteriosin dari Fermentasi Buah Sirsak (Annona maricata L) di Sumatra Barat*, Seminar MIPA-BKS Kalimantan barat, Banjarmasin, Mei 9-11
30. Syukur, S., **2012**, Isolasi, Karakterisasi, Penentuan Struktur Bakteriosin Sebagai Antimikroba/Antibiotik Alami dari Mikroba Pangan Fermentasi Lokal dan Bakteri Termofilik Sumatra Barat Untuk Menunjang Kesehatan Masyarakat, *Laporan Penelitian Hibah Pasca, DP2M DIKTI*, pp 25-35
31. Farida, E.,. **2007**, Seleksi dan Pengujian Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Hasil Isolat Lokal Serta Kemampuannya dalam Menghambat Sekresi Interleukin-8 dari Alur Sel HCT 116. *Institut Pertanian Bogor*.
32. Suardana, I. W., Suarsana, I. N., Sujaya, dan Wiryawan. K. G., **2007**, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Kandidat Biopreservatif. *Jurnal Veteriner*, vol 8 No. 4 :155-15

PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger* DAN KEMAMPUANNYA MENGHIDROLISIS JERAMI PADI

Wezyah Adri^a, Elida Mardiah^a, dan Afrizal^b

^aLaboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^bLaboratorium Kimia organik Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

*e-mail: zulkarnain_ch@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Cellulose enzyme produced by *Aspergillus niger* has been tested and applied in hydrolysis of rice straw. The enzyme was found to be carboxy methyl cellulose (CMC) as carbon source, *pretreatment* and *unpretreatment* rice straw with NaOH for 3, 6 and 9 days of periods. Rice straw hydrolysis was done by varying the substrate concentration, which were 1, 2, 3, 4 and 5 %, hydrolysis time: 30, 45, 60, 75 and 90 minutes. Formed glucose was determined by Somogy Nelson method. The highest enzyme activity was in *pretreatment* rice straw as carbon source, with 6 days of fermentation. This fact indicated that the *pretreatment* of rice straw produced the highest of cellulose enzyme with the activity of cellulose was 2.10 unit with 3 % of CMC. The maximum ability of cellulose enzyme in hydrolysis of the *pretreatment* rice straw was 4 % in 75 minutes of hydrolysis time producing reduced sugar to be 146.24 mg/L.

Keywords: rice straw, Cellulose enzyme, *pretreatment*

I. Pendahuluan

Perkembangan dan kemajuan bidang pertanian di Indonesia telah menimbulkan peningkatan limbah pertanian yang sebagian besar merupakan limbah berlignoselulosa. Limbah berlignoselulosa yang tinggi potensinya di Indonesia antara lain jerami. Di sejumlah besar daerah di Indonesia jerami hanya akan dibakar begitu saja tanpa ada pemanfaatan lebih lanjut. Selain itu belum ada pemanfaatan optimal kandungan jerami padi.

Secara umum jerami dan bahan lignoselulosa lainnya tersusun dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa dan hemiselulosa tersusun dari monomer - monomer gula sama seperti gula yang menyusun pati (glukosa), kemudian dilindungi oleh lignin yang sangat kuat. Struktur selulosa secara umum berbentuk kristalin tetapi terdapat juga bagian

- bagian yang berbentuk amorf, tingkat kekristalan selulosa mempengaruhi kemampuan hidrolisis baik secara enzimatik maupun dengan bahan kimia yang lainnya¹.

Hidrolisis selulosa menjadi gula sederhana dapat dilakukan dengan menggunakan katalis asam dan enzim selulase. Hidrolisis selulosa secara enzimatik lebih menguntungkan dibandingkan dengan menggunakan asam. Selain tidak menimbulkan korosi, hidrolisis secara enzimatik dapat berlangsung lebih cepat pada kondisi optimumnya dan kadar glukosa yang dihasilkan lebih tinggi.^{2,3}

Aspergillus niger merupakan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim selulase. Selulase juga dimanfaatkan dalam proses fermentasi dari biomassa menjadi biofuel, seperti bioethanol. Enzim selulase juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia

pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa^{4,5}. Enzim selulase merupakan enzim yang bersifat induktif. Produksi enzim selulase oleh mikroorganisme membutuhkan adanya induser dalam medium, senyawa induser tersebut umumnya berupa substrat enzim.

Substrat alami merupakan induser yang baik untuk produksi enzim selulase dari pada substrat murni. Carboxy Methyl Celulose (CMC) merupakan senyawa turunan dari selulosa. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini digunakan jerami padi dan senyawa Carboxy Methyl Celulose (CMC) sebagai induser. Selain sebagai induser, jerami padi dan CMC juga berfungsi sebagai sumber karbon untuk *Aspergillus niger*. Produksi selulase diamati dari aktivitas enzim yang dihasilkan.^{2,6}

Kemampuan enzim menghidrolisis bahan lignoselulosa dipengaruhi oleh kandungan lignin dan tingkat kekristalan selulosa. Oleh karena itu *pretreatment* diperlukan untuk menghilangkan lignin, menurunkan tingkat kekristalan selulosa sehingga meningkatkan fraksi amorph selulosa, dan meningkatkan porositas material. *Pretreatment* dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan area permukaan selulosa sehingga dapat meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa (gula fermentasi). *Pretreatment* pada penelitian ini menggunakan NaOH. Karena NaOH dapat meningkatkan hasil glukosa sebesar 85%. NaOH memiliki kemampuan mendegradasi zat ekstraktif dan sebagainya komponen kimia lignoselulosa, terutama lignin, sehingga hemiselulosa dan selulosa mudah terdegradasi.^{4,7,8}

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Pada penelitian ini alat yang digunakan adalah penyaring buchner, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu pharماسpec 1700 UV-VIS) autoklave, inkubator. Bahan yang digunakan adalah natrium karbonat, natrium tartarat, natrium bikarbonat, natrium sulfat, tembaga sulfat hidrat, asam sulfat pekat, asam molibdat, natrium hidroksida, akuabides,

asam pospat 85% , ekstrak ragi (Oxoid-England), amonium sulfat, kalium dihidrogen pospat, besi sulfat heksahidrat, Carboxy Methyl Celulose (Daichi)

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi hasil panen dijemur selama 4 hari dipotong \pm 5mm kemudian dihalus lalu diayak.⁹

2.2.2. Pretreatment jerami padi dengan Natrium Hidroksida

Sebanyak 10 g Sampel jerami dipretreatment dengan penambahan natrium hidroksida 5% pada perbandingan (1;10), lalu diautoklave selama 30 menit. Biomassa dihasilkan disaring selanjutnya dicuci sampai pH netral kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 110 °C.¹⁰

2.2.3. Persiapan jamur

Aspergillus niger didapatkan dari laboratorium ITB dan jamur ini dikembangbiakkan dengan menggunakan medium PDA dengan melakukan inkubasi selama 3 hari.⁹

2.2.4. Variasi sumber karbon dan Lama Fermentasi

Produksi enzim selulase dilakukan dengan menggunakan medium fermentasi. Kedalam 3 buah erlenmeyer berisi 100mL medium fermentasi ditambahkan dengan sumber karbon CMC, jerami tanpa *pretreatment* dan jerami padi yang telah dipretreatment dengan konsentrasi 1%. Di autoklave selama 15 menit pada suhu 121°C, dinginkan kemudian ditambahkan *Aspergillus niger* sebanyak 4 ose. Lalu dikocok pada kecepatan 250 rpm selama 3, 6 dan 9 hari. Setelah difermentasi, medium disaring untuk mendapatkan filtrat. Enzim selulase kasar yang diperoleh ditentukan aktifitasnya terhadap substrat CMC.¹¹

2.2.5. Penentuan aktivitas enzim selulase dengan substrat CMC

Sebanyak 1 mL crude enzim dari hasil fermentasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL substrat CMC dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5%

dalam buffer sitrat. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50°C, konsentrasi glukosa yang terbentuk ditentukan dengan metoda Somogy Nelson.

2.2.6 Hidrolisis jerami padi

Sebanyak 1 mL crude enzim dari hasil fermentasi dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL substrat jerami padi dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5% diinkubasi selama 30 menit. Dari hasil optimum variasi konsentrasi jerami dilanjutkan dengan memvariasikan lama hidrolisis, ditambahkan 1 mL substrat jerami padi dengan konsentrasi 4% dalam buffer sitrat diinkubasi pada variasi waktu 30, 45, 60, 75, dan 90 menit pada suhu 50°C. Produk yang terbentuk diukur dengan cara Somogy Nelson.

III. Hasil dan Pembahasan

4.1. Pretreatment jerami padi

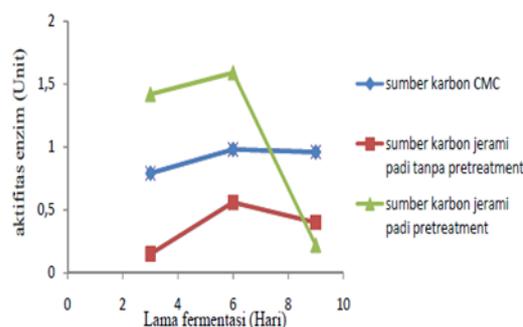
Pada penelitian ini dilakukan *pretreatment* terhadap limbah lignoselulosa yaitu jerami padi. Jerami padi *dipretreatment* dengan cara direndam dengan natrium hidroksida 5% dengan perbandingan 1:10 dan diautoklave selama 30 menit. Data jerami padi *pretreatment* ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa data jerami pretreatment

Berat jerami Padi (g)	Berat jerami <i>pretreatment</i> (g)	Hasil berat jerami padi (%)
10	5,064	50,64
10	4,876	48,76
10	6,004	60,04

Dari data diatas dapat dilihat jerami padi tanpa *pretreatment* ditimbang rata - rata sebanyak 10 g, setelah *dipretreatment* jerami padi berkurang sampai setengah berat awalnya yaitu sekitar 5-6 g. Jerami padi yang telah *dipretreatment* mengalami penyusutan dikarenakan lignin yang mengikat selulosa pada jerami padi ikut larut oleh NaOH

3.2 Variasi sumber karbon dan Lama fermentasi
Aspergillus niger memproduksi enzim selulase lebih banyak pada lama fermentasi 6 hari dan menurun pada waktu 9 hari, aktifitas enzim pada waktu 6 hari mengalami peningkatan yakni 0,98 Unit untuk sumber karbon CMC, 0,56 Unit untuk sumber karbon jerami tanpa *pretreatment* dan 1,59 Unit untuk sumber karbon jerami padi yang di*Pretreatment*.



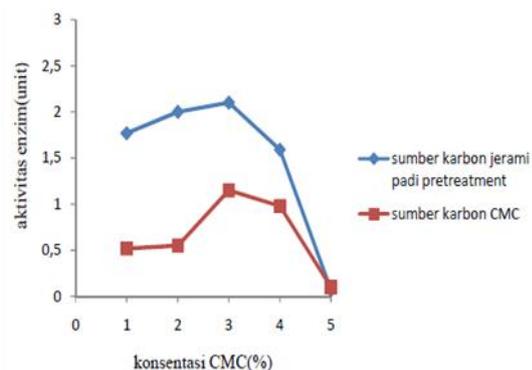
Gambar 1. Grafik hubungan variasi lama fermentasi terhadap aktivitas enzim

Dari gambar dapat dilihat pada sumber karbon jerami padi *pretreatment* aktivitas enzimnya lebih besar dibandingkan dengan sumber karbon lain yaitu CMC dan jerami padi tanpa *pretreatment*. Jerami padi yang telah *dipretreatment* lebih banyak merangsang keluarnya enzim, dibandingkan dengan CMC yang cenderung membutuhkan sedikit rangsangan terhadap enzim keluar karena merupakan sumber karbon murni yang mudah dimanfaatkan selulosanya. Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisis.

3.2 Penentuan Aktivitas Enzim dengan Substrat CMC

Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa aktivitas enzim didapatkan paling besar yaitu dengan konsentrasi substrat 3% sebesar 2,10 Unit dengan sumber karbon jerami Pretreatment dan 1,15 Unit untuk sumber karbon CMC. Pada konsentrasi substrat 1% enzim dan substrat akan bereaksi terlebih

dahulu membentuk kompleks enzim substrat (ES) dengan bertambahnya konsentrasi substrat, aktivitas enzim terus meningkat tetapi pada batas tertentu enzim menjadi jenuh oleh substrat. Sedangkan pada konsentrasi 4% mengalami penurunan menandakan bahwa enzim telah jenuh dengan substratnya.



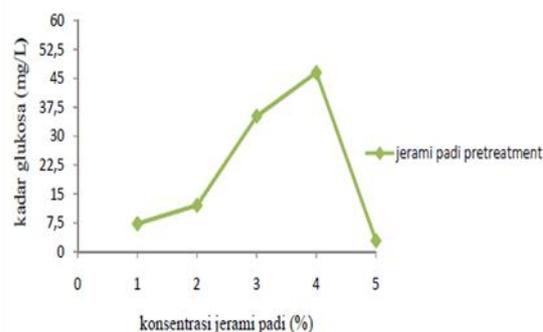
Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi substrat CMC terhadap aktivitas enzim

Pada grafik dapat dilihat untuk sumber karbon jerami padi *Pretreatment* lebih besar aktivitas enzimnya dibandingkan dengan sumber karbon CMC. Hal ini dikarenakan sumber karbon CMC mudah dicerna sehingga tidak banyak merangsang keluarnya enzim oleh mikroba. Sedangkan untuk sumber karbon jerami padi yang mana jerami padi mengandung selulosa yang terikat oleh lignin yang diuraikan dengan *Pretreatment*, sehingga enzim yang dikeluarkan oleh *Aspergillus niger* lebih banyak mengakibatkan aktivitasnya lebih besar terhadap CMC

3.3 Hidrolisis Jerami Padi

Hidrolisis jerami padi ini dilakukan setelah pengujian aktivitas terhadap crude enzim dari jamur *Aspergillus niger* dengan menggunakan substrat CMC. Hidrolisis jerami padi ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi glukosanya dengan bervariasi konsentrasi dari substrat jerami padi tersebut.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa konsentrasi glukosa optimum didapatkan pada kenaikan jerami padi yang paling besar yaitu pada konsentrasi 4% dengan konsentrasi glukosa yang terbentuk adalah 46,52 mg/L. Pada konsentrasi jerami padi 5%, kurva menurun dengan tajam karena pada konsentrasi substrat yang tinggi, substrat dapat berikatan dengan kompleks ES membentuk ESS yang tidak produktif sehingga menghambat aktivitas enzim.

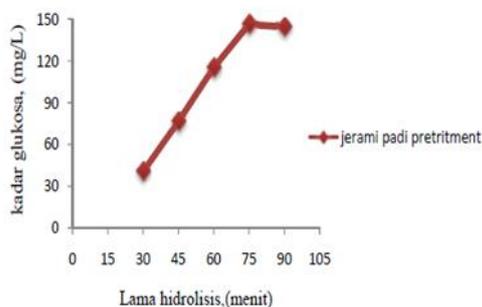


Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi jerami padi pretreatment terhadap kadar glukosa yang dihasilkan.

Pretreatment atau perlakuan awal terhadap jerami padi sebagai substrat yang mengandung lignoselulosa sangatlah penting. Dengan adanya perlakuan awal ini substrat jerami padi yang mengandung lignin dapat dirusak ikatan ligninnya oleh NaOH dan dapat meningkatkan nilai gula reduksinya

3.4 lama Hidrolisis Jerami Padi

Konsentrasi glukosa optimum didapatkan pada jerami padi 4% yaitu 46,51 mg/L. Dari data tersebut penelitian ini dilanjutkan dengan memvariasikan lama hidrolisis oleh enzim selulase dengan variasi waktu yakni 30, 45, 60, 75 dan 90 menit.



Gambar 4. Grafik penentuan konsentrasi jerami padi pretreatment terhadap lama hidrolisis

Hal ini bertujuan agar dapat mengetahui berapa banyak konsentrasi glukosa yang terbentuk dengan adanya lama kontak enzim dengan substrat. Penambahan waktu hidrolisis akan meningkatkan kadar glukosa. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa lama hidrolisis 75 menit merupakan waktu optimumnya dimana pada waktu tersebut konsentrasi glukosa yang dihasilkan sudah maksimum, glukosa yang dihasilkan sebesar 146,24 mg/L. Dengan penambahan waktu hidrolisis sampai 90 menit, tidak terjadi peningkatan konsentrasi glukosa.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pada proses fermentasi, sumber karbon mempengaruhi produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger*. Penggunaan sumber karbon jerami padi yang telah dipretreatment 1,6x lebih bagus memproduksi enzim dibandingkan sumber karbon CMC dan 3x lebih bagus dari jerami padi yang tidak dipretreatment. Produksi enzim paling banyak didapatkan pada lama fermentasi 6 hari. Aktivitas enzim dengan substrat CMC 3% didapatkan 2,10 unit untuk sumber karbon jerami padi yang telah dipretreatment. Enzim selulase dari *Aspergillus niger* dapat menghidrolisis jerami padi pada konsentrasi jerami padi 4% dan lama hidrolisis 75 menit. Dari konsentrasi jerami padi 4% diperoleh glukosa sebanyak 146,24 mg/L.

V. Ucapan terima kasih

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

Referensi

1. Howard R. L., Abotsi E. J., van Rensburg E.L, and Howard, S., **2003**, Lignocellulose Biotechnology: Issue of Bioconversion and Enzyme Production, *African J. of Biotech.* Vol 2(12), 602-619.
2. Antony, **2012**, Produksi Enzim Selulase. *Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung*. hal 1-33
3. Masfufatun, **2009**, Produksi etanol dari hidrolisat carboxil metyl selulose(CMC). *Universitas wijaya kusuma, Surabaya*, hal. 1-8
4. Kim, K.H., and Hong, J., **2001**, Supercritical CO₂ Pretreatment of Lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis, *Bioresource Technol.* Vol 77(2), 139-144.
5. Yoon, H.H., **1998**, Pretreatment of Lignocellulosic Biomass by Autohydrolysis and Aqueous Ammonia Percolation, *Korean J. of Chemical Eng*, Vol 15(6), 631-636.
6. Nwodo-chinedu, S. Okochi, V. I., Smith H.A., Okafor U.A., Onyegeme-Okerenata, B.M, and Omidiji, O., **2007**, Effect of carbon sourcer on cellulase (EC 3.2.1.4) production by *penicillium chrysogenum* PCL501. *African Journal of Biochemistry Research* Vol.1(1) , pp. 006-007.(2007)
7. Bambang Firgiyanto, **1995**, Pengaruh perlakuan Natrium Hidroksida (NaOH) terhadap sifat fisis kayu tusam (*pinur merkusii*) kayu jeungjing (*paraserianthes falcatoria*) dan kayu karet (*Hevea brasiliensis*), *Institut Pertanian Bogor*. hal 1-20
8. Abdillah, J. dan mahadin, G.R., **2008**, Natrium hidroksida (NaOH) sebagai hidrolisa basa dalam pretreatment produksi biogas dengan bahan baku

- eceng gondok (*eichorniacrassipes*), *Institut Teknologi Sepuluh November*.hal 1-38.
9. Nadien, A., Arief, W., dan Sugeng, W., **2010**, Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*, *Makara, Sains* Vol 14 No 2 Hal 113-116.
 10. Ziyu, W., Keshwani, Deepak, R., Redding, Arthur, P., and Cheng, J. J., **2010**, Sodium hydroxide Pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass, *Biological Systems Engineering: Papers and Publications*. Paper 143.
 11. Inuwa, J. M., and Obasola, E. F., **2010**, Optimization Studies On Cellulase Enzyme Production By an Isolation Strain Of *Aspergillus niger* YL128. *African journal of microbiology Research* Vol 4(24), pp 2635-2639.

PROFIL FITOKIMIA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TANAMAN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC) DAN JERUK BALI (*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr).

Unzila Rahmi, Yunazar Manjang, dan Adlis Santoni

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: Ngenek_3@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Phytochemical profile testing secondary metabolites and antioxidant activity plant of kaffir lime (*Citrus hystrix* Dc) and pomelo (*Citrus maxima* (Burm. f.) Merr) with three samples (leaves, bark, and fruit skins) has done. Obtained results that leaves Kaffir lime containing flavonoids, phenolics, steroids, and alkaloids. Rind containing flavonoids, phenolics, terpenoid, and coumarin, while bark containing flavonoids, phenolics, steroids, and coumarin. For pomelo, Leaves containing flavonoid, phenolics, steroids, terpenoids, alkaloid, and coumarin. Rind containing flavonoids, phenolic, steroids, terpenoids, alkaloids, and coumarin, while the bark containing flavonoids, phenolic, terpenoids, steroids and coumarin.

Each extract tested antioxidant activity and obtained results of ethyl acetate extracts of bark kaffir lime and methanol extracts of rind pomelo has the highest antioxidant activity with %inhibition 90,13% and 84,63%. ethyl acetate extracts of bark Kaffir lime having antioxidant activity greater than methanol extracts of rind pomelo with IC_{50} each is 0,005 % and 0,032 %.

Keywords: *Citrus hystrix* DC, *Citrus maxima* (Burm.f.) Merr, antioxidant activity, IC_{50}

I. Pendahuluan

Indonesia memiliki keragaman flora yang tumbuh di hutan hujan tropis. Salah satu tanaman banyak dijumpai di beberapa wilayah Indonesia adalah tanaman yang termasuk dalam family Rutaceae. Rutaceae merupakan salah satu famili tanaman yang terdiri dari 130 genus yang terdapat di dalam tujuh subfamili. Beberapa genus dari tanaman yang termasuk dalam famili Rutaceae diantaranya adalah *Citrus* (16 spp.), *Fortunella* (4 spp.), dan *Poncirus* (1 sp.). *Fortunella* spp. merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Cina bagian selatan *Poncirus trifoliata* L. merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Cina bagian utara. *Citrus* merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Asia bagian selatan, Jepang, dan Indonesia (Niluh, 2010).

Salah satu spesies genus *Citrus* yang penting adalah *Citrus hystrix* atau jeruk purut. Di Indonesia daun jeruk purut juga digunakan sebagai bumbu masak untuk menutupi bau amis ikan. Buahnya lebih banyak digunakan untuk perawatan tubuh dan kulit daripada digunakan untuk makanan. Kulit buah ini dapat dimanfaatkan untuk bahan shampoo pencuci rambut. Di Malaysia daun jeruk purut sering digunakan sebagai *food flavoring* pada berbagai upacara adat, sebagai bahan utama dalam obat-obat tradisional dan sebagai *cleansing agent* pencuci rambut, bagian tubuh dan peralatan (Fransisca, 1999)

Selain jeruk purut, spesies lain dengan genus yang sama juga memiliki manfaat

yang tak kalah pentingnya, yaitu spesies *Citrus maxima* (Jeruk Bali). Daging buah Jeruk Bali khasiatnya dapat membantu limpa, menghentikan batuk, dan menghilangkan pengaruh alkohol. Di samping itu Jeruk Bali efek anti kanker, menurunkan kolesterol, menurunkan resiko penyakit jantung, menurunkan tingkat hematokrit, dan membersihkan sel darah merah. Kulit buahnya berkhasiat mengeluarkan dahak, menghentikan batuk, mengatur arus energi vital dan meredakan nyeri. Biji buahnya memiliki rasa pahit dengan sifat hangat dan berguna meredakan nyeri hernia (Nyoman, 2004).

Daun jeruk purut mengandung alkaloid, polifenol (Syamsuhidayat, 1993), α -tokoferol (Ching and Mohamed, 2001), minyak atsiri (Harbone, 1987), tanin, steroid triterpenoid, sitronellal (Wijaya, 1995), flavonoid sianidin, *myricetin*, peonidin, *quercetin*, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isorhamnetin (Butryee *et al*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Weh-Yu teng, 2005, "Cytotoxic Acridone Alkaloids from the Stem Bark of *Citrus maxim*" telah berhasil mengisolasi tujuh senyawa alkaloid dari kulit batang *Citrus maxima* yaitu, 5-hydroxynoracronycine alcohol, glycocitrine-I, 5-hydroxynoracronycine, citrusinine-I, maximaine-I, natsucitrine-II, and citracridone-III.

Menurut Niken Widyastuti (2010) ada beberapa metode uji aktivitas antioksidan:

1. **Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)**, menggunakan DPPH sebagai senyawa radikal bebas.
2. **Metode CUPRAC**, menggunakan bis(neokuproin) tembaga(II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$).
3. **Metode FRAP**, menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besi-ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi.

Pada penelitian ini digunakan metode DPPH karena metode ini merupakan metode yang lebih sederhana daripada metode lainnya. Selain itu, tingkat sensitivitas DPPH sebagai senyawa radikal bebas dalam metode ini cukup tinggi.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel yang digunakan (kulit batang, kulit buah, dan daun yang sudah dikering anginkan) tanaman jeruk purut dan jeruk bali, pelarut (metanol, etil asetat, n-heksan), peeaksi (Meyer, Liebermann-Burchard), asam sulfat 2 N, asam klorida pa, aquadest, butir bubuk magnesium, anhidrida asetat, asam sulfat pekat, besi (III) klorida 1%, kertas saring, plat KLT, natrium hidroksida 1%.

Peralalatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : erlenmeyer, corong, gelas ukur, botol kaca, kaca arloji, pipet tetes, test tube, spatula, batang pengaduk, plat tetes, botol semprot, gelas ukur, gelas piala, gerinda, botol kaca gelap, kamera digital, lampu UV, cawan penguap, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

2.2. Prosedur penelitian

A. Uji Profil Fitokimia

Sampel (kulit batang, kulit buah, dan daun) tanaman jeruk purut dan jeruk bali dilakukan pengujian profil fitokimia yang meliputi uji flavonoid menggunakan pereaksi Shianoda Test yaitu asam klorida pekat dan bubuk magnesium, uji terpenoid dan steroid menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard, uji fenolik menggunakan FeCl_3 , uji saponin menggunakan HCl pekat, uji alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, dan uji kumarin menggunakan plat KLT dengan NaOH 1%.

B. Isolasi

Isolasi dilakukan terhadap sampel (daun, kulit batang, kulit buah) menggunakan metode maserasi yang menggunakan tiga jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu heksana, etil asetat, dan

metanol. Dilakukan maserasi selama 24 jam sampai volume pelarut 200 ml. Masing-masing maserat diuji aktivitas antioksidannya.

C. Uji aktivitas antioksidan

Untuk larutan DPPH, ditimbang 1,97 mg DPPH yang dilarutkan dalam metanol hingga volume 100 ml dan didapatkan larutan DPPH 50 µM. sebanyak 20 mg ekstrak dilarutkan di dalam 20 ml metanol hingga didapatkan larutan sampel masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 0,1%. Sebanyak 0,2 ml larutan sampel ditambahkan dengan 3,8 ml DPPH 50 µM. setela itu, sampel diletakkan ditempat gelap selama 30 menit dan diukur adsorbannya pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai control digunakan 3,8 ml larutan DPPH 50 µM yang ditambahkan 0,2 ml methanol. Larutan uji IC₅₀ diambil ekstrak mana yang memiliki % inhibisi paling tinggi dibuat dengan beberapa konsentrasi, yaitu 0,01%; 0,02%; 0,04%; 0,06%; 0,08% dan 0,1%. Kemudian dilakukan pengujian antioksidannya. % inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil uji fitokimia dan rendemen zat terekstrak

Tabel 1. Hasil uji fitokimia tanaman jeruk bali (*Citrus maxima*)

Metabolit sekunder	Daun	Kulit buah	Kulit batang
Flavonoid	+	+	+
Fenolik	+	++	+
Saponin	-	-	-
Steroid	++	++	+
Terpenoid	++	+	++
Alkaloid	-	+	-
Kumarin	+	+	+

Berdasarkan Tabel 1, jeruk bali (*Citrus maxima*) kaya akan senyawa steroid dan terpenoid karena terdapat pada ketiga bagian tanaman jeruk bali (*Citrus maxima*)

yang telah dilakukan pengujian. Hasil pada tabel juga menunjukkan bahwa pada ketiga bagian tanaman jeruk bali tidak terdapat senyawa saponin. Untuk senyawa alkaloid hanya terdapat ada kulit buah, itupun hanya sedikit. Pengujian uji fitokimia ini menggunakan pelarut metanol (pelarut universal) agar semua senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda (polar, semi polar, dan non polar) bisa ditarik dan di uji dengan pereaksi spesifik masing-masing senyawa tersebut.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*)

Sampel metabolit sekunder	Daun	Kulit buah	Kulit batang
Flavonoid	+	++	++
Fenolik	++	+++	+
Saponin	-	-	-
Steroid	+++	-	++
Terpenoid	-	+++	+
Alkaloid	+	-	-
Kumarin	-	+	+

Berdasarkan Tabel 2, senyawa kimia yang dominan ada pada bagian-bagian tanaman jeruk ini adalah flavonoid, fenolik, terpenoid dan yang terdapat pada ketiga bagian jeruk purut. Pada tanaman jeruk ini juga tidak terdapat saponin.

Tabel 3. Perbandingan hasil uji fitokimia jeruk bali (*Citrus maxima*) (a) dan jeruk purut (*Citrus hystrix*) (b)

metabolit sekunder	daun		kulit buah		kulit batang	
	a	b	a	b	a	b
Flavonoid	+	+	+	++	+	++
Fenolik	+	++	++	+++	+	+
Saponin	-	-	-	-	-	-
Steroid	++	+++	++	-	+	++
terpenoid	++	-	+	+++	++	+
Alkaloid	-	+	+	-	-	-
kumarin	+	-	+	+	+	+

Berdasarkan tabel 3, Pada bagian ini kedua jeruk sama-sama tidak mengandung senyawa alkaloid, begitu juga saponin. Dari bagian kulit batang, kedua spesies memiliki kandungan senyawa yang sama. Haya saja pada jeruk purut kandungan flavonoid dan steroidnya lebih banyak daripada jeruk bali.

untuk terpenoid lebih banyak terdapat pada jeruk bali.

Tabel 4. Perbandingan rendemen ekstrak jeruk bali (*Citrus maxima*) (a) dan jeruk purut (*Citrus hystrix*) (b)

Pelarut	kulit batang		kulit buah		daun	
	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)
Heksana	0,67	1,24	1,02	1,7	27,66	23
Etil asetat	4,54	5,35	6,19	7,03	4,73	5,99
metanol	7,84	10,43	22,91	26,11	30,00	17,24

Dari tabel 4, secara keseluruhan disimpulkan bahwa bagian sampel jeruk dengan rendemen paling besar adalah jeruk purut, walaupun pada bagian daun jeruk bali memiliki nilai yang cukup besar. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder pada tanaman jeruk purut lebih besar dibandingkan pada jeruk bali. Hal ini juga terbukti dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan pada kedua spesies jeruk.

Tabel 5. Perbandingan aktivitas antioksidan antara jeruk purut (*Citrus hystrix*) (a) dan jeruk bali (*Citrus maxima*) (b)

Pelarut	Kulit batang (%)		Kulit buah (%)		Daun (%)	
	a	b	a	b	a	b
Heksana	54.5	64.52	35.7	27.7	33.8	24
Etil asetat	90.1	84.44	72.7	84.1	52	30
Metanol	78.4	84.63	65.3	76.3	40	78

Dari tabel 5, dapat dilihat aktivitas antioksidan dari masing-masing jeruk. Dari data, secara keseluruhan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada jeruk purut dengan nilai %inhibisi terdapat pada bagian sampel kulit batang dengan pelarut etil asetat. Dibandingkan dengan nilai %inhibisi pada asam askorbat nilai ini hampir mendekati aktivitas antioksidan asam askorbat yaitu 96,7%. Jeruk purut merupakan tanaman dengan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi sehingga banyak dimanfaatkan dalam kebutuhan sehari-hari, baik dalam medis, industry, maupun rumah tangga. Dari hasil uji fitokimia didapat bahwa jeruk purut sangat

banyak mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa ini bertindak aktif dalam aktivitas antioksidan terutama flavonoid. walaupun juga ada senyawa fenolik, namun tidak bisa dijadikan pembanding, bahwa senyawa yang mengandung fenolik sudah pasti tinggi aktivitas antioksidannya

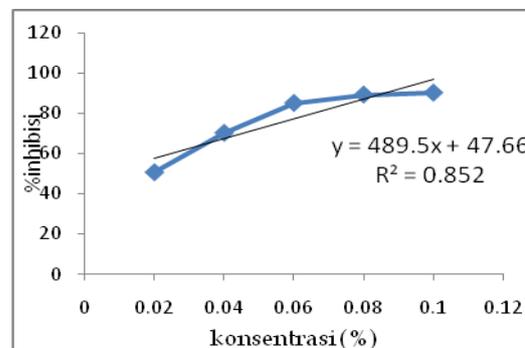
3.2. IC_{50} ekstrak etil asetat pada kulit batang jeruk purut (*Citrus hystrix*) dan ekstrak metanol pada kulit batang (*Citrus maxima*)

Untuk menguji IC_{50} pada ekstrak kulit batang jeruk purut dengan pelarut etil asetat dilakukan dengan cara memvariasikan konsentrasi dari sampel yang akan diuji, dan diukur nilai absorbannya.

Tabel 6. Nilai IC_{50} dan nilai %inhibisi pada konsentrasi ekstrak etil asetat pada kulit batang

No	konsentrasi	A sampel	A kontrol	% inhibisi
1	0,1	0,052	0,527	90,13
2	0,08	0,057	0,527	89,18
3	0,06	0,079	0,527	85,01
4	0,04	0,157	0,527	70,21
5	0,02	0,260	0,527	50,66

Untuk mendapatkan nilai IC_{50} dibuat dengan cara memvariasikan konsentrasi sampel ekstrak etil asetat pada kulit batang, dengan variasi konsentrasi 0,1%, 0,08%, 0,06%, 0,04%, dan 0,02%, sehingga didapatkan nilai %inhibisi masing-masing konsentrasi. Dari nilai %inhibisi pada tabel 7, dibuat dalam bentuk kurva hubungan konsentrasi dengan nilai %inhibisi.



Gambar 1. IC₅₀ ekstrak etil asetat pada kulit batang jeruk purut (*Citrus hystrix*)

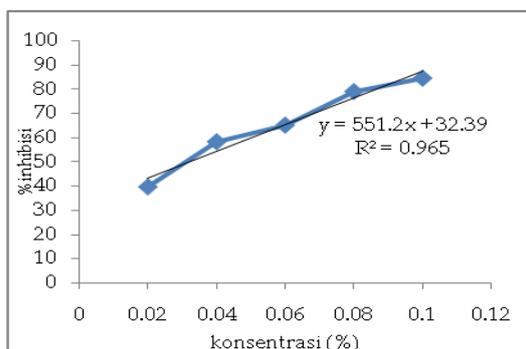
Dilihat pada gambar, kurva hubungan konsentrasi dan % inhibisi ekstrak etil asetat pada kulit batang didapatkan nilai persamaan regresinya $y = 489.5x + 47.66$, dari persamaan regresi ini didapatkanlah nilai IC₅₀ untuk ekstrak etil asetat pada kulit batang adalah 0,005%.

Untuk menguji IC₅₀ pada ekstrak metanol pada kulit batang jeruk bali dilakukan dengan cara memvariasikan konsentrasi dari sampel yang akan diuji, dan diukur nilai absorbannya.

Tabel 7. Nilai IC₅₀ dan nilai %inhibisi pada konsentrasi ekstrak metanol pada kulit batang

No	Konsentrasi (%)	A sampel	A kontrol	% inhibisi
1	0,1	0,081	0,527	84,63
2	0,08	0,110	0,527	79,13
3	0,06	0,183	0,527	65,28
4	0,04	0,219	0,527	58,44
5	0,02	0,317	0,527	39,85

Untuk mendapat nilai IC₅₀ dibuat dengan cara memvariasikan konsentrasi sampel ekstrak metanol pada kulit batang jeruk bali, dengan variasi konsentrasi 0,1%, 0,08%, 0,06%, 0,04%, 0,1%, didapatkan nilai %inhibisi masing-masing konsentrasi. Dari nilai %inhibisi pada tabel 8, dibuat dalam bentuk kurva hubungan konsentrasi dengan nilai %inhibisi.



Gambar 2. IC₅₀ ekstrak metanol pada kulit batang jeruk bali(*Citrus maxima*)

Dilihat pada gambar 16, kurva hubungan konsentrasi dan %inhibisi ekstrak metanol pada kulit batang jeruk bali didapatkan nilai regresinya $y = 551.2x + 32.39$. Dari persamaan regresi ini didapatkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak metanol pada kulit batang jeruk bali adalah 0,032%.

IV. Kesimpulan

Dari kedua spesies jeruk kandungan senyawa metabolit sekunder paling banyak jenis komponennya terdapat pada jeruk purut. Dari uji aktivitas antioksidan yang dilakukan, ekstrak etil asetat kulit batang jeruk purut dan ekstrak metanol kulit batang jeruk bali memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar yang dilihat dari nilai %inhibisi. Dari uji aktivitas antioksidan yang dilakukan, kulit batang jeruk purut dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar daripada kulit batang jeruk bali dengan pelarut metanol yang dilihat dari makin kecilnya nilai IC₅₀.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Analis Laboratorium Instrumen dan Kimia Organik Bahan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Referensi

1. Caccamese, S., 2010, Racemization at C-2 of Naringin in pummelo (*Citrus maxima*) with increasing naturity determined by chiral high-performance liquid chromatography, *Scienze Chimiche, Journal of Dipartimento*, Vol. 1217
2. Copryadi, J., 2005, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kumarin dari Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC), *Jurnal Universitas Riau, Pekanbaru*
3. He, J, Z., 2012, Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Flavonoid from Pomelo (*Citrus maxima* (L) Osbeck) Peel

- and Their Antioxidant activity, *Zhejiang University o Technology, Journal*
4. Devy, **2010**, Kandungan Flavonoid dan Limonoid pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (*Citrus mitis Blanco*) dan Purut (*Citrus hystrix DC.*), *Surabaya, Jurnal Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika*
 5. Ding, X., **2012**, Citrus ichangensis Peel Extract Exhibits Anti-Metabolic Disorder Effects by the Inhibition of PPARgamma and LXR Signaling in High-Fat Diet-Induced C57BL/6 Mouse, *China Journal of School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine*
 6. Munawaroh, S., **2010**, Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan Pelarut Etanol dan N-heksana, *Jurnal Program studi Teknik Kimia, Universitas Negri Semarang*
 7. Dhiya, A., **2012**, Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima Burm.Fz*) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrylhidrazyl), *Jurnal Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negri Surabaya*

PENENTUAN KANDUNGAN KAPSAISIN PADA BERBAGAI BUAH CABAI (*Capsicum*) DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

Rahmi Yola, Zulfarman, dan Refilda

Laboratorium Analisis Terapan Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail : rahmiyola@ymail.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The determination of capsaicin concentration in various kinds of chilies fruit by HPLC method has been carried out. The purpose of this research was to determine chilies capsaicin concentration from 8 kinds of chilies (*Capsicum*), for *Capsicum annum* was evaluated based on two level of fruit maturity. The Optimum condition of the research were reverse phase of HPLC method used C₁₈(250 mm x 4,6 mm) column, mobile phase acetonitrile and water (50:50), flow rate 1 mL/minute and UV detector λ 280 nm, retention time 15 minute. This method was validated, determination coefficient (R²) was 0.9998. Recovery percentage was about 90.97 % - 97.10 %. RSD value of capsaicin was 0.14 % based on retention time and 0.52 % based on peak area. Limit of Detection (LoD) of capsaicin was 0.1015 mg/L and Limit of Quantification (LoQ) was 0.3372 mg/L. The result of analysis showed that capsaicin concentration of CMJ, CHJ, CRJ, CMP, CHP, CRP, CMM, and CHM samples, 494.56 mg/L, 605.35 mg/L, 1832.02 mg/L, 761.53 mg/L, 1062.82 mg/L, 2267.64 mg/L, 650.68 mg/L, and 1580.35 mg/L, respectively. Based on data provided CRP (Cabai Rawit Padang) had the highest capsaicin concentration and CMJ (Cabai Merah Jawa) had the lowest capsaicin concentration. While on the maturity level for *Capsicum annum*, green chili had high capsaicin concentration than red chilli.

Key words: Capsaicin, Chilli (*Capsicum sp*), KCKT

I. Pendahuluan

Cabai (*Capsicum*) merupakan salah satu buah yang penting karena sudah sejak lama dikenal sebagai bumbu yang memberikan rasa pedas pada aneka masakan serta obat¹. Bagi masyarakat Indonesia khususnya masyarakat Minangkabau, produk cabai ini merupakan salah satu bahan yang tidak bisa dipisahkan dengan makanan sehari-hari. Cabai juga berkhasiat mengobati berbagai penyakit, seperti reumatik, sariawan, sakit gigi, flu, dan dapat pula sebagai stomatik atau peningkat nafsu makan. Cabai juga dapat mencegah penyakit stroke dan jantung koroner karena kapsaisin bersifat anti koagulan yang

bekerja untuk menjaga darah tetap encer dan mencegah terbentuknya kerak lemak pada pembuluh darah¹.

Kapsaisin (*8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide*)² merupakan komponen utama alkaloid lipofilik yang memberikan rasa pedas pada cabai³. Ukuran pedas dari cabai tergantung pada kandungan kapsaisin dan senyawa kapsaisinoid lain yang dikandungnya. Kapsaisin mencapai 90% dari total kapsaisinoid yang terdapat dalam cabai⁴.

Kandungan kapsaisin dari masing-masing cabai berbeda-beda. Tingkat rasa pedas pada cabai awal mulanya diukur

menggunakan satuan Scoville, diambil dari nama Wilbur Scoville. Ia mengembangkan teknik pengukuran secara organoleptik. Kapsaisin murni diberi nilai 16.000.000 satuan Scoville. Ada lima tingkat kepedasan yang diklasifikasikan menggunakan satuan pedas Scoville (SHU) : non pedas (0-700 SHU), agak pedas (700-3000 SHU), cukup pedas (3000-25000 SHU), sangat pedas (25000-70000 SHU) dan sangat sangat pedas (>80000 SHU)⁵.

Kandungan komponen “pedas” yang terdapat pada cabai bisa dianalisis dengan menggunakan metoda KCKT untuk penentuan senyawa kapsaisin. Satu ppm sebanding dengan 16 satuan Scoville⁶. Disamping itu, untuk penentuan senyawa kapsaisin juga dapat dilakukan dengan menggunakan metoda Kromatografi Gas.

Pada sistem KCKT data yang dihasilkan adalah waktu retensi dan luas area dari komponen-komponen sampel. Analisa kuantitatif pada KCKT dilakukan dengan cara membandingkan luas puncak standar senyawa murni dengan sampel, sedangkan analisa kualitatif pada KCKT dilakukan dengan cara mencari kesamaan komponen kapsaisin sampel dengan standar⁷.

KCKT dioperasikan dalam sistem proses elusi, dimana beberapa μL sampel diinjeksikan dengan *syringe* kepada injektor. Setelah itu, akan terjadi pemisahan komponen pada kolom dan detektor akan mendeteksi komponen sampel dengan waktu yang berbeda.

Metode KCKT memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode konvensional yaitu metode yang sensitif, akurat, analisa yang dilakukan dalam waktu yang cepat, daya pisahnya baik, cocok untuk analisa senyawa yang memiliki molekul besar maupun kecil, bisa untuk senyawa yang mudah menguap dan yang tidak menguap, senyawa organik dan anorganik, senyawa ionik dan non ionik, senyawa polar dan non polar waktu analisis

singkat serta sampel yang dibutuhkan sedikit⁸.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kapsaisin pada cabai. Keakuratan dari metoda yang digunakan untuk menganalisis kandungan senyawa kapsaisin tersebut menggunakan parameter standar deviasi relatif, nilai batas deteksi dan batas kuantisasi serta nilai perolehan kembali⁹.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar kapsaisin ($\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) HPLC grade, asetonitril (CH_3CN), metanol (CH_3OH), bahan-bahan tersebut keluaran Merck, dan sampel cabai yang berasal dari daerah Padang, Jawa dan Medan serta aquabides. Jenis cabai yang digunakan yaitu cabai besar (*Capsicum annum*) dan cabai rawit (*Capsicum frutescens*). Untuk cabai dengan spesies *Capsicum annum* dilakukan penelitian berdasarkan dua tingkat kematangan.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat KCKT (Shimadzu LC-20AD) dengan kolom C18 (250 nm x 4,6 nm) dan detektor UV-Vis, mikro syringe 20 μL , perangkat ultrasonic (Branson tipe 1510), spektrofotometer UV-Vis (Evolution 201 UV-Visible), neraca analitis (Mettler), shaker, sentrifus, membrane filter PTFE 0,45 μm (Whatman), kuvet, botol kaca, cawan porselin dengan penutup, desikator, tang penjepit, pisau cutter, nampan, kertas koran, blender, oven pengering serta peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

2.2. Prosedur penelitian

Penentuan Panjang Gelombang Optimum Secara Spektrofotometri UV

Larutan kapsaisin diukur serapannya dari panjang gelombang 220 s/d 400 nm menggunakan spektrofotometer UV, didapatkan spektrum serapannya.

Kemudian ditentukan panjang gelombang untuk analisis dimana senyawa tersebut memberikan serapan yang baik.

Penentuan Komposisi Fasa Gerak

Larutan yang mengandung kapsaisin 100 mg/L diencerkan dengan fasa gerak asetonitril dan air 1 : 1 diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom KCKT dengan kecepatan alir 1 mL/menit pada kondisi panjang gelombang optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Dibuat komposisi fasa gerak asetonitril dan akuabides 40 : 60 ; 45 : 55 ; 50 : 50 dan 55 : 45. Untuk menentukan senyawa tersebut memiliki resolusi yang bagus dapat dihitung dengan menggunakan rumus $R = \frac{2(t_{R_B} - t_{R_A})}{w_A + w_B}$. Jika semakin besar nilai R yang diperoleh maka pemisahannya semakin baik. Selain dari nilai R, perlu juga dipertimbangkan dari nilai waktu retensi suatu senyawa tersebut.

Penentuan Standar Deviasi Relatif

Larutan kapsaisin 5 mg/L diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom KCKT sebanyak 6 kali pengulangan menggunakan kondisi analisis yang telah ditentukan sebelumnya. Standar deviasi relatif ditentukan berdasarkan waktu retensi dan luas puncak yang dihasilkan dengan menggunakan rumus :

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$
$$SDR = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan :

SDR = Standar Deviasi Relatif

S = Standar deviasi / simpangan baku

\bar{x} = Nilai rata-rata

Penentuan Batas Deteksi (*Limit Of Detection*) dan Batas Kuantisasi (*Limit Of Quantification*).

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dari senyawa kapsaisin dilakukan dengan pengukuran dari masing-masing larutan standar dengan rentang konsentrasi 0, 1, 2, 3, 5, mg/L dan 8

mg/L. Kemudian ditentukan batas deteksi dan kuantisasinya.

Proses ekstraksi sampel dan analisis sampel

Ekstraksi sampel

Masing-masing sampel yang sudah dikering anginkan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga diperoleh sampel bubuk halus. Masing-masing sampel yang sudah halus dalam bentuk bubuk ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi dengan volume tabungnya berukuran 10 mL. Tambahkan 3 mL etanol ke dalam masing-masing tabung. Kemudian di shaker selama 10 menit agar sampel terekstrak dengan baik. Dilakukan sentrifus selama 5 menit agar hasil ekstrak yang didapatkan terpisah antara filtrat dan endapan. Filtrat yang diperoleh, disaring dengan menggunakan kertas saring yang porinya berukuran 0,45 µm dan dimasukkan kedalam labu ukur berukuran 250 mL. Proses ekstrak ini dilakukan sampai enam kali ekstrak. Semua filtrat yang didapatkan dari masing-masing sampel dicampurkan ke dalam labu ukur yang berbeda dan diencerkan dengan menggunakan etanol p.a sampai tanda batas. Sampel ini dipersiapkan untuk diinjeksikan ke KCKT.

Analisis Sampel

Filtrat yang dikumpulkan dengan proses ekstrak sampai enam kali ekstrak yang dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan diencerkan sampai tanda batas diinjeksikan pada KCKT untuk masing-masing sampel.

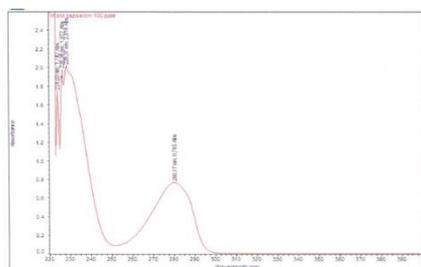
Penentuan Perolehan Kembali

Dilakukan pengukuran terhadap masing-masing sampel konsentrasinya kemudian dilakukan adisi standar 0,3 mg/L yang ditambahkan kepada larutan sampel sebanyak 5 mL dengan menggunakan labu ukur 10 mL. Kocok dengan sempurna dan diencerkan sampai tanda batas. Ambil 20 µL larutan tersebut, diinjeksikan pada KCKT sehingga didapatkan kromatogram.

Persen perolehan kembali diperoleh dari perbandingan konsentrasi sampel setelah adisi dengan sejumlah konsentrasi standar ang ditambahkan dan konsentrasi sampel.

III. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan penentuan panjang gelombang optimum pemisahan mengukur serapan larutan kapsaisin dengan konsentrasi 100 mg/L pada panjang gelombang 220 s/d 400 nm menggunakan spektrofotometer UV. Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang optimum pemisahan yaitu pada 280 nm seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum UV Kapsaisin

Uji presisi yang dilakukan merupakan uji pengulangan dengan melakukan pengukuran terhadap luas area dan waktu retensi secara berulang sebanyak ≥ 6 kali pengulangan pada kondisi yang sama untuk larutan standar kapsaisin. Untuk penentuan standar deviasi relatif dilakukan pada larutan kapsaisin dengan konsentrasi 5 mg/L. Dari hasil pengukuran diketahui bahwa nilai standar deviasi relatif untuk kapsaisin adalah 0,14 % berdasarkan waktu retensi dan 0,52% berdasarkan luas puncak.

Dari hasil perhitungan diperoleh batas deteksi (LoD) kapsaisin adalah sebesar 0,1015 mg/L dan batas kuantisasi (LoQ) kapsaisin adalah sebesar 0,3372 mg/L.

Aplikasi pada Sampel

Berdasarkan persamaan regresi kapsaisin, dapat ditentukan kadar

kapsaisin pada sampel. Kadar kapsaisin pada sampel kering total lebih besar daripada cabai kering angin dan lebih tinggi daripada sampel dalam keadaan segar. Dari hasil pengukuran berdasarkan cabai kering total dapat diketahui bahwa semua sampel mengandung kapsaisin dimana kadar tertinggi dari kapsaisin terdapat pada sampel CRP (Cabai Rawit Padang) yaitu 2267,64 mg/L dan kadar terendah terdapat pada sampel CMJ (Cabai Merah Jawa) yaitu 494,56 mg/L. Berdasarkan tingkat kematangannya untuk jenis *Capsicum annum*, cabai hijau memiliki kadar kapsaisin yang tinggi dibandingkan dengan cabai merah. Untuk jenis cabai *Capsicum frutescens* kadar kapsaisin CRP (Cabai Rawit Padang) lebih tinggi dibandingkan dengan CRJ (Cabai Rawit Jawa).

IV. Kesimpulan

Metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan fase gerak asetonitril dan air menggunakan detektor UV dan kolom C₁₈ (250 mm x 4,6 mm) dapat digunakan untuk penentuan kapsaisin. Kondisi optimum yang diperoleh dengan menggunakan fasa gerak campuran asetonitril dan air (50 : 50) dengan waktu retensi 15 menit, laju alir 1 mL/menit dengan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 280 nm. Metoda ini mempunyai ketelitian yang cukup baik dengan nilai standar deviasi kapsaisin untuk waktu retensi adalah 0,14 % sedangkan nilai SDR untuk luas puncak adalah 0,52 %. Batas deteksi (LoD) untuk kapsaisin adalah 0,1015 dan batas kuantisasinya (LoQ) adalah 0,3372. Metoda ini juga mempunyai ketepatan yang cukup baik dimana nilai perolehan kembali (*recovery*) berkisar antara 90,97 % s/d 97,1 0%.

Hasil analisis dari delapan jenis sampel cabai yang diuji diperoleh kadar kapsaisin dari sampel CMJ, CHJ, CRJ, CMP, CHP, CRP, CMM, dan CHM berturut-turut adalah 494,56 mg/L, 605,35 mg/L, 1832,02 mg/L, 761,53 mg/L, 1062,82 mg/L, 2267,64 mg/L, 650,68 mg/L, dan 1580,35 mg/L. Berdasarkan data tersebut jenis cabai CRP (Cabai Rawit Padang) memiliki kandungan kapsaisin tertinggi dan CMJ (Cabai Merah Jawa) memiliki kandungan kapsaisin terendah. Berdasarkan tingkat kematangannya untuk jenis *Capsicum annum* kandungan kapsaisin untuk sampel cabai hijau memiliki kadar kapsaisin yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel cabai merah.

V. Ucapan terima kasih

Dalam penelitian ini, saya mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Farmasi Universitas Andalas.

Referensi

1. Setiadi, **2011**, Bertanam Cabai di Lahan dan Pot, *Penebar Swadaya*, Jakarta.
2. Hermanto, **2011**, Capsaicin Cabai Peningkat Termodinamika dan Kalor Dalam Metabolisme Tubuh, *IPB* : Bogor.
3. Yahia, E. M., **1998**, Change in Capsaicinoids During Development, Maturation and Senescence of Chile Peppers and Relation with Peroxide Activity, *J. Agric. Food Chem*, 46, 2075-2079.
4. Nwokem C. O, Agbaji, E. B., Kagbu, J. A., Ekanem, E. J, **2010**, Determination of Capsaicin Content and Pungency Level of Five Different Peppers Grown in Nigeria, *New York Science Journal*, 9, 17-21.
5. Sanatombi, K., and Sharma G. J. **2008**. Capsaicin Content and Pungency of Different *Capsicum* spp. Cultivars. *Agrobot. Cluj*, 36 (2), 89-90.
6. Perucka, I. W., and Oleszek, **2000**, Extraction and Determination of Capsaicinoids in Fruit of Hot Pepper *Capsicum Annum L.* By Spectrophotometry and High Performance Liquid Chromatography, *Food Chem*, 71, 287-291.
7. Saksit, C., Jureerat J., and Suchila, T., **2012**, Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Some Chili Varieties using Accelerated Solvent Extraction Associated with Solid-Phase Extraction Methods and RP HPLC Fluorescence, *Coden Ecjha*, 9, 1550-1551.
8. Boes, E., **2003**, Studi Kasus Validasi Metode HPLC, *Pusat Penelitian Kimia*, Bandung.
9. Margaret, C. D., Mayer, W. L, Bosland P, W., **1995**, Improved Method for Quantifying Capsaicinoids in *Capsicum* Using High Performance Liquid Chromatography, *Hort Science*, 30, 137-139.

PENGGUNAAN PASANGAN ELEKTRODA CuO/C DALAM SEL FOTOVOLTAIK CAIR DALAM PRODUKSI GAS HIDROGEN

Diana Hayati^a, Admin Alif^a, dan Syukri^b

^aLaboratorium Elektro/Fotokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^bLaboratorium Kimia Material, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: dianahayati015@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The research on the use of a pair of electrodes CuO/C in the cell photovoltaics liquid using a tube u has been done. The aim of this research is to find out how the performance of a pair of electrodes CuO/C in converting solar energy into electrical energy by using a tube U. The current, voltage power and measured by the use of three tube U with series circuits and a series of parallel with the condition of open in the room (at 09.00 WIB until 14.00 WIB). A variation that is used is the temperature of the burning process and long burning. The temperature and long burning that produces power is the temperature of maximum 400°C for an hour with resources 8,3800 mWatt at 11.00 WIB. A series of parallel produces a current of greater and a voltage lower if compared with series circuits. Gas H₂ produced as much when compared with O₂. To a series of series obtained I_{sc}, V_{oc}, an I_{mp} and V_{mp} successive 0,049 mA; 190 mV; 0,030 mA and 105 mV so FF 0,338. Meanwhile, in a series of parallel I_{sc}, V_{oc}, an I_{mp} and V_{mp} each obtained 0,105 mA; 51 mV; 0,085 mA and 25mV with FF 0,397.

Keywords: cells photovoltaics, series circuits, a series of parallel, the electrode

I. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis yang mempunyai potensi energi surya yang cukup tinggi dengan radiasi harian kira-kira sebesar 4,5 kW/m²/hari. Indonesia juga memiliki suplai energi yang diterima bumi sangat besar mencapai 3x10²⁴ Joule per tahunnya. Energi matahari ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif yang murah dan tersedia sepanjang tahun.¹⁻²

Energi merupakan kebutuhan utama manusia sehingga peningkatan kebutuhan energi dapat menjadi indikator dalam peningkatan kemakmuran masyarakat. Di lain pihak dapat menimbulkan masalah dalam penyediaannya, karena dengan menipisnya cadangan minyak bumi menyebabkan pemanfaatan energi alternatif

nonfosil juga harus ditingkatkan. Apabila terjadi pergeseran dari penggunaan sumber energi tak terbarui menuju sumber energi yang terbarui, maka pengembangan energi listrik tenaga surya yang berbasis kepada efek fotovoltaik (PV) dari sel surya dapat digunakan sebagai pilihan yang tepat. Pada kenyataannya, penggunaan sel surya sebagai sumber energi listrik masih sangat minim karena adanya beberapa faktor, seperti kemampuan sel surya yang belum optimal dalam menghasilkan tenaga listrik, proses pembuatan sel yang memerlukan operasi pembiayaan yang mahal, apalagi jika sel tersebut masih harus diimpor bagi pembuatan modul sel surya tersebut.^{1,3} Adanya beberapa kendala dan keterbatasan menyebabkan energi surya lebih banyak dimanfaatkan untuk sistem yang kecil dan di daerah yang terpencil yang belum

terjangkau oleh aliran listrik saja. Perkembangan jenis baru sel surya harus dipromosikan untuk meningkatkan kesadaran masyarakat bahwa cadangan minyak bumi bisa habis selama abad ini, dan ada kemungkinan kebutuhan energi planet ini dua kali lipat dalam 50 tahun ke depan sehingga dilakukan pengembangan energi terbarukan, seperti PV. Sumber daya terbarukan adalah sumber energi bersih yang memberikan dampak lingkungan yang jauh lebih rendah dari sumber energi konvensional.⁴⁻⁶

Penelitian mengenai Sel PV pasangan CuO/Cu dan CuO/*stainless steel* dalam bentuk tunggal dan serabut dengan elektrolit NaCl telah dilakukan sebelumnya, menunjukkan pasangan elektroda CuO/Cu dan CuO/*Stainless steel* dalam bentuk serabut maupun tunggal dapat digunakan dalam sel fotovoltaik cair dengan menggunakan larutan elektrolit NaCl. Kelemahan dari pasangan elektroda CuO/Cu dan CuO/*Stainless steel* ini hanya bisa digunakan selama tiga hari secara berturut-turut karena semakin lama pasangan elektroda akan teroksidasi dan tidak dapat menghasilkan arus. Pada penelitian tersebut juga dihasilkan gas H₂ dan Cl₂ yang dapat berdampak negatif bagi lingkungan.⁷

Pengembangan dari penelitian tersebut dilakukan dengan cara mengganti larutan elektrolitnya dengan natrium sulfat dan pasangan elektroda Cu digantikan dengan C. Hasilnya pasangan elektroda tersebut bisa digunakan lebih lama dan gas yang dihasilkan H₂ dan O₂ tetapi arus yang didapatkan masih sangat kecil. Dari penelitian tersebut dapat dilakukan modifikasi agar arus yang dihasilkannya lebih besar, yaitu dengan menggunakan CuO berupa batangan yang dibakar dengan menggunakan furnace pada berbagai variasi baik suhu pembakaran maupun lama pembakaran, serta wadah yang digunakan lebih sederhana agar mudah terjadinya reaksi sebuah siklus, yaitu berupa tabung U.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah lempengan tembaga, pensil 2 B merek *faber castel*, Na₂SO₄, aquades dan WPC (pembersih lantai).

Alat-alat yang digunakan neraca analitis, alat-alat gelas, multimeter, penjepit buaya, tabung U, buret, furnace, potensiometer, ampelas, standar dan klem.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Penyiapan Elektroda

Elektroda CuO diperoleh dari batangan tembaga berupa silinder (tabung) berdiameter 4,49 mm, tebal 0,49 mm dan panjang 12,5 cm yang berasal dari pipa tembaga saluran pendingin AC. Lempengan tembaga ini dibakar dengan menggunakan furnace pada berbagai suhu.

Elektroda C diperoleh dari pensil 2B dengan merek *faber castel*. Caranya dengan membuka bagian kayu pembungkusnya dengan menggunakan pisau dan diampelas sehingga didapatkan karbon dari pensil tersebut.

2.2.2 Penyiapan Larutan Elektrolit

Larutan Na₂SO₄ yang digunakan merupakan konsentrasi optimum yang didapatkan pada penelitian sebelumnya yaitu 0,5 N yang disiapkan dengan cara menimbang sebanyak 3,5515 gram Na₂SO₄, kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 mL.

2.2.3 Pengukuran Arus dan Tegangan Sel Fotovoltaik Pasangan Elektroda CuO/C Menggunakan Larutan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N Dengan Variasi Suhu Pembakaran

Larutan Na₂SO₄ 0,5N dituangkan ke dalam 3 buah tabung U masing-masing sebanyak 16 mL. Kemudian, pada masing-masing tabung dimasukkan pasangan elektroda CuO/C dengan variasi suhu pembakaran yaitu 300, 400 dan 500°C masing-masing selama 1 jam. Selanjutnya, dapat dilakukan pengukuran kuat arus dan tegangan di dalam cahaya ruangan dengan menggunakan alat multimeter dengan rentang waktu dari pukul 09.00 WIB sampai

14.00 WIB. Data hasil yang diperoleh dari pengukuran kuat arus dan tegangan yang dialurkan pada grafik. Dari grafik tersebut dapat ditentukan suhu optimum elektroda CuO untuk menghasilkan kuat arus dan tegangan dari sel fotovoltaik.

2.2.4 Pengukuran Arus dan Tegangan Sel Fotovoltaik Pasangan Elektroda CuO/C Menggunakan Larutan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N Dengan Variasi Lama Pembakaran

Dengan menggunakan kondisi suhu pembakaran CuO yang optimum, maka dapat dilakukan variasi lama pembakaran pada suhu tersebut. Kemudian akan didapatkan hasil arus yang lebih besar dan stabil pada kondisi suhu optimum tersebut. Variasi lama pembakaran yang digunakan yaitu 1/2 jam, 1 jam, dan 2 jam.

2.2.5 Penentuan Daya yang Dihasilkan Sel Fotovoltaik Pasangan Elektroda CuO/C Menggunakan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N

Besarnya daya pada sel fotovoltaik dapat ditentukan dari hasil kali arus dan tegangan yang dihasilkan, yaitu:

$$P = I \cdot V$$

Dimana P = daya, I = arus, V = tegangan. Satuan yang digunakan dalam penghitungan daya ini adalah mWatt.

2.2.6 Pengukuran Arus dan Tegangan Sel Fotovoltaik Pasangan Elektroda CuO/C Menggunakan Larutan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N Dengan Variasi Rangkaian

Dengan didapatkannya kondisi suhu dan lama pembakaran yang optimum, maka untuk mendapatkan arus yang lebih besar dapat dilakukan dengan membandingkan dalam rangkaian pasangan Elektroda CuO/C tersebut, yaitu rangkaian seri dan rangkaian paralel. Dan dari kedua rangkaian tersebut juga dibandingkan kestabilan elektroda dalam menghasilkan arus dan tegangan.

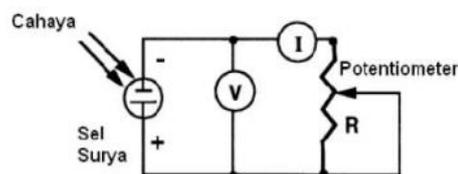
2.2.7 Penentuan Jumlah/Volume yang Dihasilkan dari Sel Fotovoltaik

Arus dan tegangan yang berasal dari rangkaian dihubungkan pada sebuah tabung U yang masing-masing diisi dengan elektroda karbon sebagai penghasil

gas. Volume gas yang dihasilkan dari sel fotovoltaik diukur dengan menyambungkan buret pada masing-masing ujung tabung dimana buret tersebut telah diisi dengan gelembung sabun. Gas akan terbaca dari pergerakan gelembung sabun tersebut.

2.2.8 Karakteristik Kurva I-V

Karakteristik arus dan tegangan I-V dapat dilakukan pada rangkaian seri dan paralel dengan cara menghubungkannya dengan potensiometer yang diminimalkan dan dimaksimalkan, dengan rangkaian sebagai berikut:



Gambar 1. Rangkaian alat dengan potensiometer

Dengan demikian, akan didapatkan arus maksimum dan tegangan maksimum dari elektroda sel PV tersebut.

III. Hasil dan Pembahasan

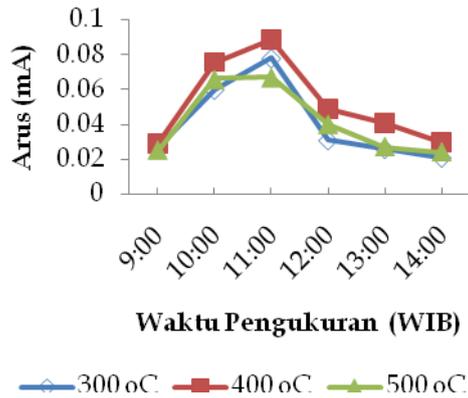
3.1 Pengaruh Variasi Suhu Pembakaran Untuk Arus dan Tegangan Sel Fotovoltaik Pasangan Elektroda CuO/C Menggunakan Larutan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N

Untuk menentukan kondisi yang optimum dari semikonduktor sebagai penangkap foton, maka dilakukan variasi dengan suhu pembakaran terhadap lempengan Cu agar menjadi CuO. Variasi yang digunakan adalah 300, 400 dan 500°C yang dibakar sama-sama dalam waktu yang sama yaitu 1 jam pembakaran.

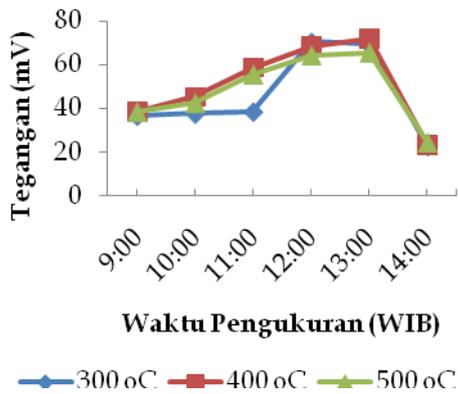
Pada pembakaran dengan suhu 300°C, didapatkan CuO yang lapisannya lebih tipis dibandingkan pada variasi suhu lainnya, sedangkan pada 500°C didapatkan lapisan CuO yang lebih tebal dibanding variasi suhu lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu pembakaran, maka akan semakin tebal lapisan CuO yang terbentuk.

Berdasarkan kurva pada Gambar 2 (a), dapat dilihat bahwa pada suhu pembakaran 400°C, arus yang dihasilkan lebih besar

dibandingkan dengan suhu pembakaran 300 dan 500°C. Arus optimum didapatkan pada pukul 11.00 WIB untuk ketiga elektroda tersebut. Begitu pula pada Gambar 2 (b) menunjukkan tegangan yang dihasilkan pada suhu 400°C rata-rata lebih tinggi dibandingkan 2 variasi lainnya.



(a)



(b)

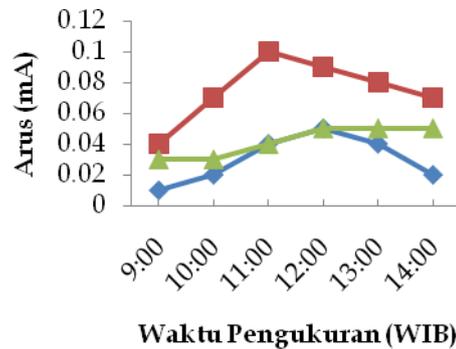
Gambar 2. Pengaruh suhu pembakaran selama 1 jam untuk (a) arus, dan (b) tegangan yang dihasilkan pada sel fotovoltaik cair

3.2 Pengaruh Variasi Lama Pembakaran Untuk Arus dan Tegangan Sel Fotovoltaik Pasangan Lempengan Elektroda CuO/C Menggunakan Larutan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N

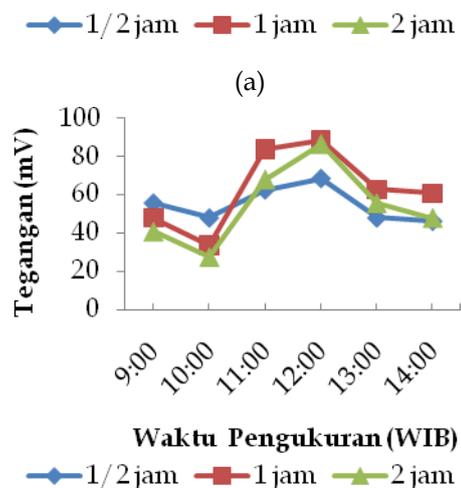
Pada kondisi optimum suhu pembakaran dapat dilakukan variasi selanjutnya, yaitu lama pembakaran. Variasi lama pembakaran yang digunakan pada

penelitian ini adalah ½, 1, dan 2 jam dengan suhu 400°C.

Dari kurva yang didapatkan (Gambar 3), terlihat arus yang dihasilkan optimum pada lama pembakaran 1 jam, sedangkan untuk tegangannya kurang stabil, namun pada pukul 11.00 WIB hingga 14.00 WIB terlihat bahwa tegangan optimum pada lama pembakaran 1 jam. Hal ini dapat saja terjadi karena adanya perbedaan daya serap elektroda dan intensitas sinar matahari yang ada.



(a)



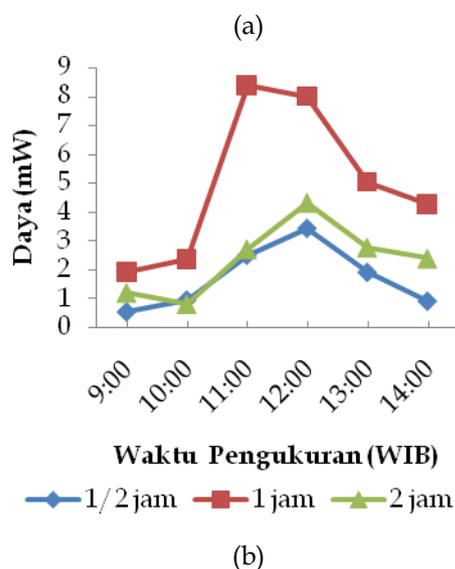
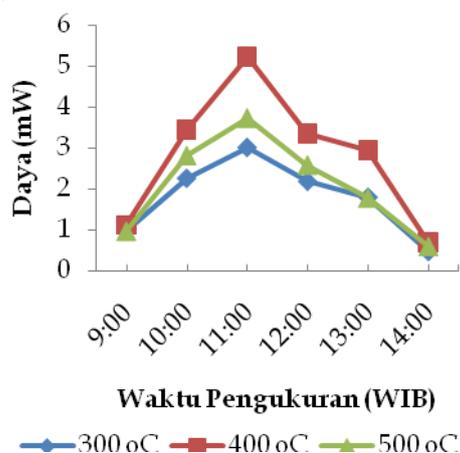
(b)

Gambar 3. Pengaruh lama pembakaran pada suhu 400°C untuk (a) arus dan (b) tegangan yang dihasilkan pada sel fotovoltaik cair

3.3 Penentuan Daya yang Dihasilkan Sel Fotovoltaik Pasangan Elektroda CuO/C Menggunakan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N

Dengan mengetahui daya suatu sel, maka dapat ditentukan kinerja dari sel tersebut. Hal ini menunjukkan banyaknya energi

matahari yang terserap oleh sel PV dalam bentuk foton yang dapat dimanfaatkan nantinya dalam bentuk energi listrik. Daya dipengaruhi oleh arus dan tegangan. Jika arus dan tegangan yang dihasilkan tinggi, maka daya yang akan dihasilkan juga akan tinggi pula, dan begitu pula sebaliknya. Kedua kurva pada Gambar 4, menunjukkan secara signifikan bahwa suhu pembakaran yang menghasilkan daya optimum adalah 400°C dan lama pembakaran adalah selama 1 jam.



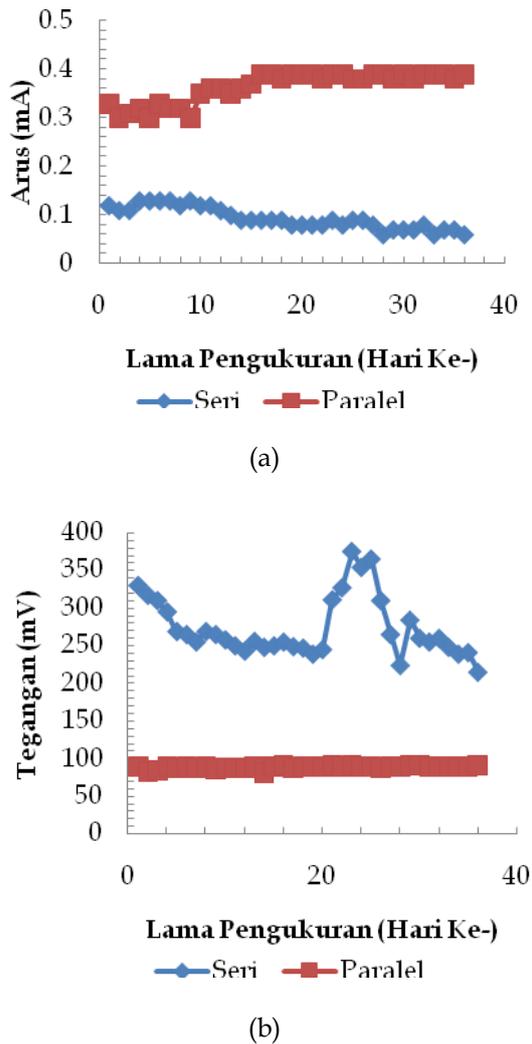
Gambar 4. Daya yang dihasilkan pada sel fotovoltaik cair pasangan elektroda CuO/C menggunakan larutan elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N pada (a) variasi suhu dan (b) lama pembakaran Cu

Daya optimum yang diperoleh yaitu pukul 11.00 WIB. Semakin tinggi suhu yang digunakan dalam membakar Cu, maka lapisan CuO yang terbentuk juga akan semakin tebal, dan apabila suhu terlalu tinggi dapat membentuk CuO seluruhnya sehingga tidak ada yang dapat menghantarkan arus lagi ke elektroda C. Pada suhu yang terlalu rendah dapat membentuk lapisan CuO yang lebih tipis dan menyebabkan sulitnya terjadi eksitasi elektron ke pita konduksi.

3.4 Pengukuran Arus dan Tegangan Sel Fotovoltaik Pasangan Lempengan Elektroda CuO/C Menggunakan Larutan Elektrolit Na₂SO₄ 0,5 N Dengan Variasi Rangkaian

Pada variasi rangkaian ini, digunakan kondisi optimum yang telah didapatkan sebelumnya pada dua variasi yaitu suhu pembakaran dan lama pembakaran. Variasi rangkaian yang digunakan yaitu rangkaian seri dan rangkaian paralel dari 3 buah sel PV.

Arus dan tegangan yang dihasilkan berbeda pada rangkaian seri dan paralel. Arus yang dihasilkan jauh lebih besar pada rangkaian paralel dibandingkan seri, namun sebaliknya untuk tegangan, rangkaian seri menghasilkan tegangan yang lebih besar (Gambar 5). Hal ini sesuai dengan teori bahwa untuk rangkaian seri, jumlah arus merupakan rata-rata dari arus yang dihasilkan setiap elektroda yang digunakan, namun untuk tegangannya merupakan jumlah dari tegangan setiap elektroda yang digunakan dan untuk rangkaian paralel jumlah arus merupakan jumlah dari tegangan setiap elektroda yang digunakan, namun untuk tegangannya adalah rata-rata dari arus yang dihasilkan setiap elektroda yang digunakan.⁸



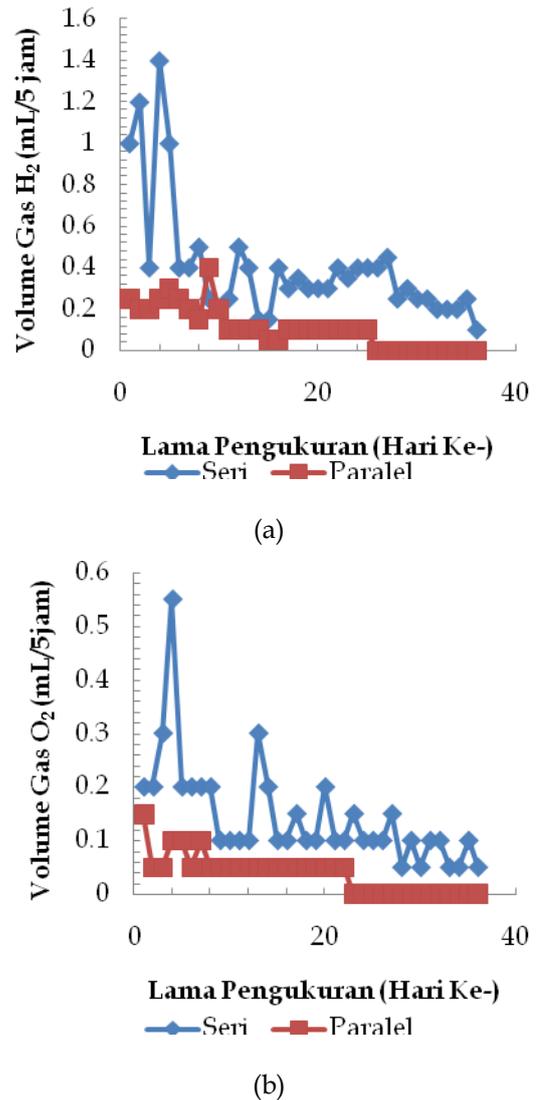
Gambar 5. Pengaruh rangkaian terhadap (a) arus dan (b) tegangan yang dihasilkan pada sel fotovoltaik cair

Untuk kestabilan elektrodanya, rangkaian seri dan paralel masih relatif stabil hingga 36 hari dimana untuk rangkaian seri arus turun dari 0,12 mA menjadi 0,06 mA. Namun, pada elektrolitnya sudah mulai terbentuk gumpalan, dan elektroda yang digunakan mulai berubah.

3.5 Pengukuran Banyaknya Gas yang Dihasilkan dari Sel Fotovoltaik

Apabila kedua kutub elektroda (katoda dan anoda) pada sel elektrolisis diberi arus listrik yang dihasilkan sel fotovoltaik, maka pada elektroda tersebut akan timbul gelembung gas.

Ion H^+ tertarik ke katoda yang bermuatan negatif sehingga ion H^+ berubah menjadi atom H. Atom-atom hidrogen akan bergabung membentuk gas hidrogen dalam bentuk gelembung gas pada katoda. Hal serupa terjadi pada ion OH^- yang bergerak menuju anoda kemudian membentuk gas oksigen dalam bentuk gelembung gas.⁹

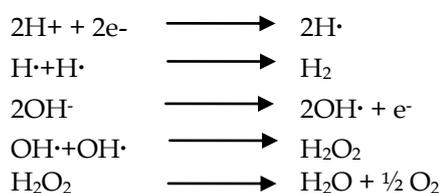


Gambar 6. Pengaruh rangkaian terhadap volume gas (a) H_2 dan (b) O_2 yang dihasilkan pada sel fotovoltaik cair

Menurut Kastono (2009) semakin besar voltase yang digunakan, maka akan semakin banyak pula gas hidrogen yang dihasilkan.¹⁰ Gas H_2 yang dihasilkan pada

rangkaian seri lebih banyak bila dibandingkan dengan rangkaian paralel. Hal ini dipengaruhi oleh tegangan yang dihasilkan sebab pada rangkaian seri tegangan yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan rangkaian paralel sehingga gas yang dihasilkan lebih banyak baik untuk gas O₂ maupun gas H₂.

Banyaknya gas H₂ dan O₂ yang dihasilkan dapat dibandingkan karena jumlah gas H₂ lebih banyak bila dibandingkan dengan gas O₂, sesuai dengan persamaan reaksinya:



Dari persamaan reaksi di atas dapat disimpulkan bahwa gas H₂ yang dihasilkan memang lebih banyak bila dibandingkan dengan O₂ (yaitu dengan perbandingan 2:1).

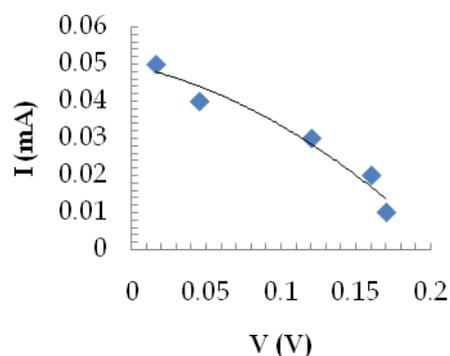
3.6 Karakteristik Arus dan Tegangan, I-V

Karakteristik I-V ini dapat menentukan arus dan tegangan maksimum. I_{sc} merupakan arus maksimum ketika tegangan nol, dan V_{oc} sebaliknya, merupakan tegangan maksimum ketika arusnya nol. Dari kurva I-V ini dapat ditentukan faktor pengisi dari sel PV tersebut, yaitu dengan cara membandingkan hasil perkalian I_{mp} dan V_{mp} dengan I_{sc} dan V_{oc}.

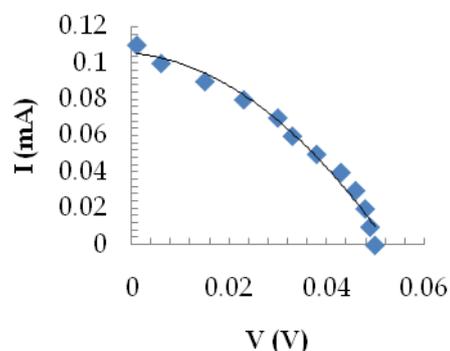
Untuk rangkaian seri (Gambar 7a) didapatkan I_{sc} 0,049 mA dan V_{oc} 190 mV. Untuk I_{mp} dan V_{mp} dapat dilihat pada grafik yaitu 0,03 mA dan 105 mV sehingga didapatkan faktor pengisi (FF) rangkaian ini 0,338. Dan pada rangkaian paralel (Gambar 7b) I_{sc}, V_{oc}, I_{mp} dan V_{mp}-nya masing-masing didapatkan 0,105 mA, 51 mV, 0,085 mA dan 25mV.

Dari data tersebut juga didapatkan faktor pengisi (FF) dari sel PV tersebut yang merupakan perbandingan perkalian I_{mp} dan V_{mp} terhadap perkalian I_{sc} dan V_{oc}, yaitu

0,397. Jadi, dapat disimpulkan bahwa faktor pengisi untuk rangkaian paralel lebih besar apabila dibandingkan dengan FF rangkaian seri.



(a)



(b)

Gambar 7. Karakteristik kurva I-V pada rangkaian (a) seri 3 sel dan (b) paralel 3 sel

IV. Kesimpulan

Pasangan elektroda CuO/C dengan menggunakan elektrolit Na₂SO₄ dengan menggunakan tabung U dapat digunakan untuk mengubah energi cahaya menjadi energi listrik. Kondisi optimum yang didapatkan adalah suhu pembakaran 400°C dengan lama pembakaran selama 1 jam. Rangkaian seri menghasilkan arus yang lebih kecil dan tegangan yang lebih besar bila dibandingkan dengan rangkaian paralel. Pada reaksi ini akan menghasilkan gas O₂ dan H₂ dan banyaknya gas yang dihasilkan dipengaruhi oleh tegangan. Pasangan elektroda CuO/C dalam menghasilkan arus listrik secara fotovoltaiik

relatif stabil hingga 36 hari, namun lama kelamaan akan terbentuk gumpalan pada elektrolit dan elektroda tembaga mengalami perubahan.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Fotokimia Elektrokimia Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Bachtiar, M., 2006, Prosedur Perancangan Sistem Pembangkit Listrik Tenaga Surya Untuk Perumahan (Solar Home System), *Universitas Tadulako*, Palu.
2. Hardian, A., Ahmad M. dan Omay S., 2010, Sintesis dan Karakterisasi Kristal Cair Ionik Berbasis Garam Fatty Imidazolinium Sebagai Elektrolit Redoks Pada Sel Surya Tersensitisasi Zat Warna, *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, Vol.1, No.1, 7-16.
3. Hariyadi, H. ,2010, Pengaruh Ukuran Partikel TiO₂ Terhadap Efisiensi Sel Surya Jenis DSSC (Dye-Sensitized Solar Cell), *Universitas Diponegoro*, Semarang.
4. Rahardjo, A., Herlina dan Safruddin H., 2008, Optimalisasi Pemanfaatan Sel Surya Pada Bangunan Komersial Secara Terintegrasi Sebagai Bangunan Hemat Energi, *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi*, 417-426.
5. Wu, J., Lan Z., Hao S., Li, P., Lin, J., Huang, M., Fang, L., and Huang, Y., 2008, Progress on the electrolytes for dye-sensitized solar cells, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 80 No. 11, pp. 2241-2258.
6. Dobrzański, A.L., and Drygała, A., 2008, Surface Texturing of Multicrystalline Silicon Solar Cells, *JAMME*, Vol.31, Issue 1.
7. Firahayu, M., Alif, A., dan Imelda, 2011, Sel Fotovoltaik Pasangan CuO/Cu Dan CuO/Stainless Steel Dalam Bentuk Tunggal Dan Serabut Dengan Elektrolit NaCl, Vol.1.
8. Andewi, N.M.A.Y., dan Wahyono H., Produksi Gas Hidrogen Melalui Proses

Elektrolisis Air Sebagai Sumber Energi, *Jurusan Teknik Lingkungan-FTSP-ITS* (Tidak Diterbitkan), 1-15.

9. Budyanto, 2013, <http://budisma.web.id/menghitung-rangkaian-pengganti-seri-paralel-hambatan.html>, Download pada 12 Juli 2013.
10. Kastono, 2009, The Influence Of Electrolyte Ion Size To The Hydrogen Gas Production On The Electrolysis Of Salt Chloride Solution, *Chemistry Teaching*, Bandung 1-4.