

JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 3 Nomor 1
Februari, 2014



*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. STUDI TOKSISITAS BROMOFENOL BERDASARKAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR AKTIFITAS (HKSA) HALOGEN FENOL Lucya Fitri, Emdeniz, dan Imelda	1-8
2. PRODUKSI BIOETANOL DARI JERAMI PADI DENGAN METODE <i>SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION</i> (SSF) Ichsan Marli, Marniati Salim, Zulkarnain Chaidir	9-18
3. PRODUKSI BIOETANOL MENGGUNAKAN METODA <i>SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION</i> (SSF) DARI LIMBAH KULIT NANAS DENGAN PERLAKUAN BASA Nur Afdila, Marniati Salim, dan Zulkarnain Chaidir	19-25
4. OPTIMASI PENENTUAN Ni(II) DAN Fe(II) SECARA SIMULTAN DENGAN VOLTAMMETRI STRIPING ADSORPTIF (AdSV) Raesa Pratiwi Putri, Deswati, Hamzar Suyani	26-34
5. ISOLASI DAN KARAKTERISASI TERPENOID DARI FRAKSI AKTIF TOKSISITAS DAUN SRIKAYA (<i>Annona squamosa</i> L.) Ayu Muthia, Afrizal, dan Bustanul Arifin	35-38
6. PEMANFAATAN EKSTRAK ETANOL KULIT JENGKOL (<i>Pithecellobium jiringa</i>) SEBAGAI INHIBITOR KOROSI BAJA St.37 DALAM MEDIUM ASAM KLOORIDA Siska Rozi, Emriadi, dan Yeni Stiadi	39-47
7. VALIDASI METODA PENENTUAN ANTIOKSIDAN TOTAL (DIHITUNG SEBAGAI ASAM ASKORBAT) SECARA SPEKTROFOTOMETRI DENGAN MENGGUNAKAN OKSIDATOR FeCl ₃ DAN PENGOMPLEK <i>orto</i> - FENANTROLIN Yuharmaleni Putri, Yefrida, dan Umiati Lukman	48-53
8. OPTIMASI TRANSPOR Ni (II) ANTAR FASA DENGAN AMONIUM PIROLIDIN DITIOKARBAMAT (APDC) SEBAGAI ZAT PEMBAWA MELALUI TEKNIK MEMBRAN CAIR FASA RUAH Yuliana, Djufri Mustafa, dan Olly Norita Tetra	60-63

STUDI TOKSISITAS BROMOFENOL BERDASARKAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR AKTIFITAS (HKSA) HALOGEN FENOL

Lucya Fitri, Emdeniz, Imelda

^aLaboratorium Kimia Komputasi Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: lucyafitri@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Study quantitative analysis of the structure and activity relationship halogen phenol derivatives had been performed by multilinear regression analysis. Structural parameters were obtained from the structure geometry optimization results using semiempirical methods AM1 (Austin Model 1) and PM3 (Parameterized Model 3) while the toxic activity of the experimental was acquired from literature. Independent variables were used in Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) are C_1 atom charge, O atom charge, polarizability, log P, dipole moment, E_{LUMO} , E_{HOMO} and the dependent variable in the form $-\log IC_{50}$ experiments. QSAR equations were obtained from PM3 method are better than AM1 method. The best QSAR equation is $-\log IC_{50\text{predicted}} = 29.556 + 20.023 (qC_1) - 21.023 (qO) - 0.564 (\alpha) + 3.559 (\log P) - 0.325 (\mu) + 3.151 (E_{HOMO}) - 10.074 (E_{LUMO})$ ($n = 10$; $R^2 = 0.975$; $SD = 0.71795899$)

Toxic activity values of $-\log IC_{50}$, 2-bromophenol; 2,4-dibromophenol; 5-bromophenol; 2,3-dibromophenol; 3,5-dibromophenol; 2,4,5-tribromophenol; 2,3,4-tribromophenol; 2,6-dibromophenol; 2,3,4,5-tetrabromophenol; 2,3,5,6-tetrabromophenol are 0.439898; 2.295010; 2.380608; 2.92455; 3.697125; 4.009600; 4.511717; 4.915778; 5.402502; 6.396181, respectively.

Keywords: Halogen phenol, toxicity, QSAR, AM1, PM3

I. Pendahuluan

Fenol adalah senyawa organik aromatik dengan gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Fenol dan turunannya banyak digunakan sebagai bahan kimia dalam industri dan merupakan bahan yang berbahaya, sesuai dengan tingkat toksisitas yang bervariasi menurut tipenya. Disamping bersifat toksik, beberapa senyawa derivat fenol merupakan antiradikal dan antioksidan, yang sering digunakan saat ini adalah senyawa turunan fenol dan amina. Antiradikal golongan fenol

sebagian besar terdiri dari antiradikal alam dan sejumlah antiradikal sintesis.¹

Senyawa fenol tersubstitusi banyak digunakan sebagai antiradikal dan antioksidan. Antiradikal yang baik adalah senyawa yang mampu membuat radikal fenol dari antiradikal menjadi lebih stabil. Contoh antioksidan dan antiradikal fenol sintetik yang biasa digunakan adalah BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) dan BHT (*Butil Hidroksi Toluene*). Kedua bahan tersebut merupakan senyawa fenol tersubstitusi pada posisi *para* dan kedua posisi *ortho*-nya. Dari

beberapa penelitian didapatkan bahwa perbedaan struktur antioksidan berpengaruh terhadap daya antioksidan senyawa. BHT dengan substituen *t*-butil pada dua posisi *ortho* dan *para*-nya menyumbang aktivitas antioksidan lebih kuat dibanding dengan BHA.²⁻³

Kajian Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) antara toksisitas senyawa fenol dengan menggunakan parameter hidrofobik dan lipofilitas telah banyak dilakukan. Kajian ini mempelajari korelasi secara kuantitatif antara struktur molekul dan nilai aktivitas biologis yang terukur secara eksperimen. Struktur suatu senyawa dapat direpresentasikan sebagai parameter fisik dan kimiawi (analisis Hansch), variabel indikator (analisis Free- Wilson) atau dengan peninjauan sifat molekular secara tiga dimensi (analisis HKSA-3D). Berdasarkan pada parameter yang digunakan, analisa HKSA digolongkan dalam 3 metode, yaitu metode Hansch, metode Free-Wilson dan metode 3 dimensi (*Comparative Molecular Field Analysis* (CoMFA)). Metode Hansch berkembang dari pemikiran bahwa interaksi senyawa dengan reseptor terjadi karena adanya efek gaya-gaya intermolekular seperti interaksi hidrofobik, interaksi polar, interaksi elektrostatik dan efek sterik senyawa.⁴⁻⁵

Perkembangan kimia komputasi memungkinkan untuk perhitungan kuantum suatu senyawa sehingga dapat diperoleh struktur elektronik senyawa tersebut, yang dapat dinyatakan dengan parameter muatan atom, momen dwikutub, kerapatan elektron dan lain-lain. Analisis HKSA-3D dikembangkan sebagai antisipasi permasalahan yang terdapat pada metode Hansch, yaitu senyawa-senyawa enantiomer yang memiliki kuantitas sifat fisikokimia yang sama, tetapi memiliki aktivitas biologis berbeda. Richard Cramer menggunakan prosedur analisis perbandingan medan molekular (*Comparative Molecular Field Analysis*, CoMFA) dalam metode HKSA-3D ini. CoMFA berusaha untuk menyusun suatu hubungan antara aktivitas biologis

dan sifat sterik dan/atau elektrostatik dari suatu seri senyawa.⁶⁻⁷

Pada penelitian ini dilakukan analisis studi toksisitas senyawa turunan fenol berdasarkan HKSA, dengan menggunakan parameter struktural molekul secara kuantitatif dari beberapa halogen fenol dengan menggunakan metode semiempiris PM3 dan AM1. Parameter yang dihitung antara lain: $qC1$, qO , E_{HOMO} , E_{LUMO} , *polarizability* (α), Log P, momen dipol (μ). Hubungan kuantitatif antara variabel terikat dengan variabel bebas ini diolah dengan menggunakan metode statistik multilinear menggunakan program *SPSS for windows 17.0*.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh hubungan kuantitatif antara aktivitas toksik $-\log IC_{50}$ dengan struktur molekul dan elektronik derivat fenolnya yang telah didapatkan secara eksperimen dan memprediksi nilai toksisitas ($-\log IC_{50}$) senyawa turunan fenol yang belum ada nilai aktivitasnya dari hasil perhitungan secara eksperimen.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi tentang nilai toksik suatu senyawa derivat fenol, sehingga bermanfaat bagi pengguna derivat fenol, baik untuk digunakan sebagai parameter aktifitas toksisitas.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Peralatan dan instrumentasi

Alat-alat yang digunakan yaitu Sebuah perangkat keras berupa komputer dengan *processor Intel® Atom™ N2600 1.66 GHz, memory 2.00 GB*. Perangkat lunak kimia komputasi: program *Hyperchem™ for windows* versi 7.0. dan program *Statistical Package for Service Solutions (SPSS) for Windows* versi 17.0. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu seri senyawa derivat fenol serta nilai aktivitas toksik ($-\log IC_{50}$) yang diungkapkan dalam jurnal P.Yan-Fen dan L.Tian-Bao.⁸

Tabel 1. Nilai aktivitas toksik senyawa derivat fenol hasil eksperimen⁸

No.	Senyawa	$-\log IC_{50}$ ekperimen
1	3-florofenol	0,38
2	3-klorofenol	0,87
3	3-bromofenol	1,15
4	2,4-diklorofenol	1,04
5	3,5-diklorofenol	1,57
6	3-kloro-4-florofenol	1,13
7	2,4,5-triklorofenol	2,1
8	2,3,5,6-tetraklorofenol	2,22
9	2,3,5,6-tetraflorofenol	1,17
10	Fenol	-0,21

2.2. Prosedur penelitian

Pada penelitian ini, untuk menggambarkan struktur yang sebenarnya setiap senyawa dibuat model struktur 3D menggunakan paket program *Hyperchem*. Proses selanjutnya adalah melakukan optimasi geometri molekul berupa minimasi energi molekul untuk memperoleh konformasi struktur paling stabil. Perhitungan dilakukan dengan metode semiempiris AM1 dan PM3 dengan RMS gradient 0,001 kkal/Å mol dan *maximum cycle* 500. Metode optimasi dilakukan berdasarkan algoritma Polak-Ribiero. Keadaan struktur paling stabil ditandai dengan didapatkan energi total terendah. Untuk mendapatkan luaran data dilakukan perhitungan *single point* terhadap masing-masing molekul yang telah dioptimasi. Tentukan nilai parameter muatan pada atom C₁ yang berikatan dengan O (qC₁), muatan oksigen dari fenol (qO), E_{HOMO}, E_{LUMO}, *polarizability*, log P, momen dipol (μ) dan ΔE . Aktivitas toksik hasil eksperimen derivat fenol ($-\log IC_{50 \text{ ekp}}$) pada *Tetrahymena Pyriformis* yang digunakan sebagai variabel terikat tercantum pada Tabel 1.⁸

Tahap selanjutnya dari penelitian ini adalah menentukan korelasi antara aktivitas toksik hasil eksperimen ($-\log IC_{50 \text{ ekp}}$) dengan masing-masing deskriptor, dihitung dengan metode analisis regresi linier menggunakan perangkat lunak SPSS 17 dengan metode enter. Selanjutnya dari 7 variabel bebas yang

tersedia dibuat variasi variabel bebas, sehingga akan didapatkan beberapa bentuk alternatif model persamaan. Untuk setiap model persamaan alternatif didapat beberapa parameter statistik seperti R, R², SD dan F_{hit}/F_{tab}. Dari semua bentuk persamaan yang didapatkan dipilih beberapa persamaan yang dianggap baik berdasarkan nilai parameter statistik. Persamaan yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas toksik prediksi. Untuk mengetahui kualitas dan kemampuan memprediksi dari setiap model persamaan, maka dihitung harga PRESS-nya.

Nilai PRESS didapatkan dari persamaan:

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (Y_{pred} - Y_{ekp})^2$$

Persamaan yang mempunyai nilai PRESS terkecil dipilih sebagai persamaan yang terbaik untuk memprediksi nilai $-\log IC_{50}$ menurut metode HKSA. Bila semua parameter statistik dan nilai PRESS belum memberikan gambaran yang nyata untuk memilih model terbaik, maka dilakukan uji statistik antara nilai aktivitas toksik prediksi yang dihitung berdasarkan persamaan model dengan nilai $-\log IC_{50 \text{ ekp}}$ yang tercantum pada Tabel 1.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Optimasi Senyawa Fenol dan Derivat Halogen Fenol

Hasil optimasi senyawa fenol dan derivat halogen fenol didapatkan dengan menggunakan dua metode semiempiris AM1 dan PM3 dalam program *HyperChem*. Proses selanjutnya adalah melakukan optimasi geometri molekul berupa minimasi energi molekul untuk memperoleh konformasi struktur paling stabil. Perhitungan dilakukan dengan metode semiempiris AM1 dan PM3. Variabel bebas yang digunakan qC₁, qO, polaritas (σ), log P, momen dipol, E_{HOMO} dan E_{LUMO} dan nilai aktivitas toksik ($-\log IC_{50}$) sebagai variabel terikat. Dari data hasil yang diperoleh dapat dilihat pengaruh nilai toksik dari 7 variabel bebas tersebut.

Nilai log P sangat berkaitan dengan distribusi obat dalam tubuh. Karena nilai log P merupakan ukuran kenonpolaran dari suatu senyawa, semakin besar nilai log P maka senyawa akan semakin non polar. Semakin bersifat non polar suatu senyawa maka efek toksik akan semakin besar. Karena senyawa tersebut akan mudah mengendap dalam tubuh.

Nilai log P yang paling kecil terdapat pada senyawa 3-florofenol dan nilai paling besar didapatkan pada senyawa 3-bromofenol, hal ini sangat berpengaruh pada efek toksik suatu senyawa. Sedangkan pada nilai polarisabilitas berkisar antara $10,98 \text{ \AA}^3$ sampai dengan $18,78 \text{ \AA}^3$. Nilai polarisabilitas juga merupakan ukuran tingkat kepolaran dari suatu senyawa. Jika suatu senyawa semakin polar maka efek toksiknya akan sedikit atau rendah, karena senyawa tersebut dalam tubuh akan larut dalam air dan bisa dikeluarkan melalui urine.

Pada penelitian ini juga dihitung nilai E_{HOMO} dan E_{LUMO} , dan kemudian dihitung selisih E_{HOMO} dan E_{LUMO} atau celah pita (ΔE (eV)). Pada tabel terlihat nilai (ΔE) pada metode AM1 dan PM3 nilainya tidak jauh berbeda dan hampir mendekati 9 eV. Semakin kecil (ΔE) suatu senyawa maka senyawa tersebut akan semakin kurang stabil dan toksisitasnya semakin besar.

3.2 Korelasi Deskriptor Senyawa Fenol dan Derivat Halogen Fenol dengan Aktivitas Toksik ($-\log IC_{50}$) eksperimen

Hasil korelasi anatara variabel terikat dengan variabel bebas dengan menggunakan metode AM1 dan PM3 dapat dilihat pada (Tabel 2 dan 3). Korelasi antar variabel digunakan untuk melihat bagaimana hubungan yang terjadi antara variabel sesungguhnya secara awal.

Berdasarkan data analisis statistik korelasi yang didapatkan dengan menggunakan paket program *SPSS for Windows 17.0* yang telah disajikan pada Tabel 2 dan 3, dapat dilihat pengaruh tiap-tiap substituen pada posisi tertentu terhadap aktivitas toksik. Pada tabel tersebut dapat terlihat jelas

bahwa antara variabel bebas qC_1 , qO , polaritas (α), log P, momen dipol, E_{HOMO} dan E_{LUMO} menunjukkan korelasi dengan $-\log IC_{50}$ sehingga dapat dianalisis dengan regresi multilinear.

Tabel 2. Koefisien korelasi antara variabel bebas dan variabel terikat dengan menggunakan metode AM1

No.	Parameter	$-\log IC_{50}$
1	$-\log IC_{50}$	1
2	qC_1	0,461
3	qO	0,639
4	A	0,845
5	Log P	-0,283
6	μ	-0,317
7	E_{HOMO}	-0,478
8	E_{LUMO}	-0,760

Tabel 3. Koefisien korelasi antara variabel bebas dan variabel terikat dengan menggunakan metode PM3

No.	Parameter	$-\log IC_{50}$
1	$-\log IC_{50}$	1
2	qC_1	0,482
3	qO	0,508
4	A	0,845
5	Log P	-0,283
6	μ	-0,337
7	E_{HOMO}	0,121
8	E_{LUMO}	-0,660

Dari tabel koefisien korelasi baik dengan metode semiempiris AM1 dan PM3 dapat dilihat bahwa nilai polarisabilitas atau polaritas memberikan nilai yang besar terhadap nilai $-\log IC_{50}$, dimana nilai korelasinya adalah 0,845 (Tabel 2 dan 3). Nilai korelasi yang bertanda negatif menunjukkan arah yang berlawanan atau variabel bebas berbanding terbalik dengan variabel terikat ($-\log IC_{50}$). Dan log P memberikan nilai korelasi yang kecil dengan metode AM1, dimana nilai korelasinya terhadap $-\log IC_{50}$ adalah -0,283. Sedangkan PM3 nilai korelasi yang terkecil pada parameter 0,121.

Data korelasi tersebut tidak cukup kuat untuk melihat adanya data yang signifikan, sehingga dilakukan analisis regresi multilinear untuk menentukan model

persamaan terbaik dengan data yang paling signifikan. Hasil regresi multilinear antara aktivitas toksik ($-\log IC_{50}$) dengan variabel bebas (muatan C_1 , muatan O, polaritas, log P, momen dipol, E_{HOMO} dan E_{LUMO}).

3.3 Penentuan Model Persamaan HKSA Terbaik

Melalui perhitungan statistik analisis regresi multilinear dengan menggunakan program *SPSS For Windows 17.0*, didapat model persamaan HKSA. Untuk menentukan model persamaan terbaik dari metode AM1 dan PM3, dapat dilihat dari parameter-parameter atau deskriptor statistik yang didapatkan. Nilai parameter statistik R, R^2 , dan SD tiap model persamaan relatif tidak jauh berbeda sehingga penggunaan parameter statistik ini dalam penentuan model persamaan yang terbaik masih belum memuaskan. Sehingga digunakan teknik uji PRESS pada ke 6 model persamaan baik pada metode AM1 dan PM3, agar didapatkan model persamaan HKSA terbaik.

Tabel 4. Variabel bebas yang terlibat dalam model persamaan metode AM1

No.	variabel yang terlibat	PRESS
1.	$qC_1, qO, \alpha, \text{Log P}, \mu, E_H, E_L$	0,180425
2.	$qC_1, qO, \alpha, \text{Log P}$	0,403268
3.	$qC_1, qO, \alpha, \mu, E_H, E_L$	0,199070
4.	$qC_1, qO, \text{Log P}, E_H, E_L$	0,184515
5.	$\alpha, \text{Log P}, \mu, E_H, E_L$	0,234935
6.	qC_1, α, E_H, E_L	0,365643

Tabel 5. Variabel bebas yang terlibat dalam model persamaan metode PM3

No.	variabel yang terlibat	PRESS
1.	$qC_1, qO, \alpha, \text{Log P}, \mu, E_H, E_L$	0,117773
2.	$qC_1, qO, \alpha, \mu, E_H, E_L$	0,210918
3.	$qC_1, qO, \text{Log P}, E_H, E_L$	0,162611
4.	α, μ, E_H, E_L	0,224589
5.	$qC_1, \alpha, \mu, E_H, E_L$	0,352889
6.	$qO, \text{Log P}, E_H, E_L$	0,168506

Setelah dilakukan uji PRESS pada model persamaan, maka didapatkan nilai PRESS yang terkecil pada metode AM1 dan PM3. Selanjutnya dari dua model persamaan

yang terbaik dari dua metode semiempiris AM1 dan PM3, dipilih satu model persamaan terbaik. Dari Tabel 6 dapat dilihat perbedaan dari kedua metode tersebut.

Tabel 6. Persamaan terbaik AM1 dan PM3 pada model persamaan 1

No.	Parameter	Metode AM1	Metode PM3
1	R	0,981	0,988
2	R^2	0,962	0,975
3	AR^2	0,829	0,889
4	SD	0,713	0,718
5	F	7,241	11,254
6	Sig.	0,127	0,084
7	PRESS	0,180	0,118

Pada metode AM1 didapatkan nilai $R = 0,981$, $R^2 = 0,962$, $SD = 0,713$. Dan pada metode PM3 didapatkan nilai $R = 0,988$, $R^2 = 0,975$, $SD = 0,718$. Dari kedua model persamaan tersebut parameter statistik R dan R^2 yang lebih mendekati nilai = 1 adalah metode PM3, akan tetapi nilai SD yang terkecil terdapat pada model persamaan pada metode AM1, yang dapat dilihat pada Tabel 6.

4.4 Hasil Analisis Regresi Multilinear

Hasil persamaan regresi multilinear yang menyatakan hubungan struktur molekul elektronik dengan $-\log IC_{50}$, yang melibatkan semua variabel bebas (muatan atom C_1 , muatan atom O, polaritas, log P, momen dipol, E_{HOMO} dan E_{LUMO}) yang didapatkan dengan menggunakan paket program *SPSS for Windows 17.0* (Tabel 7 dan 8). Dapat dinyatakan dalam bentuk persamaan HKSA sebagai berikut:

1. Metode AM1

$$-\log IC_{50} \text{ prediksi} = 0,315 + 2,628 (qC_1) - 24,067 (qO) + 0,039 (\alpha) + 0,693 (\text{log P}) - 0,014 (\mu) + 0,687 (E_{HOMO}) - 3,121 (E_{LUMO})$$

dengan parameter regresi: ($n = 10$; $R^2 = 0,962$; $SD = 0,713$)

2. Metode PM3

$$-\log IC_{50} \text{ prediksi} = 29,556 + 20,023(qC1) - 21,023(qO) - 0,564 (\alpha) + 3,559 (\log P) - 0,325 (\mu) + 3,151 (E_{HOMO}) - 10,074 (E_{LUMO})$$

dengan parameter regresi: (n = 10; R²= 0,975; SD = 0,718)

Dari persamaan analisis regresi multilinear dengan metode AM1 dan PM3 diatas, dapat dilihat bahwa variabel bebas yang sangat berpengaruh pada variabel terikat (-log IC₅₀) yaitu muatan C₁ sebesar 20,023 dan 2,628. Berdasarkan persamaan regresi multilinear dapat dihitung nilai -log IC₅₀ prediksi dari senyawa fenol dan derivat halogen fenol yang disajikan pada (Tabel 7 dan 8).

Tabel 7. Hasil nilai -log IC₅₀ prediksi senyawa fenol dan derivat halogen fenol dengan metode AM1

Senyawa	-log IC ₅₀ eksperiment	-log IC ₅₀ prediksi
3- florofenol	0,38	0,383
3- klorofenol	0,87	0,753
3- bromofenol	1,15	1,227
2,4-dibromofenol	1,04	1,064
3,5 - diklorofenol	1,57	1,405
3-kloro-4-florofenol	1,13	1,216
2,4,5- triklorofenol	2,1	1,86
2,3,5,6 tetraklorofenol	2,22	2,456
2,3,5,6 tetraflorofenol	1,17	1,157
Fenol	-0,21	-0,09

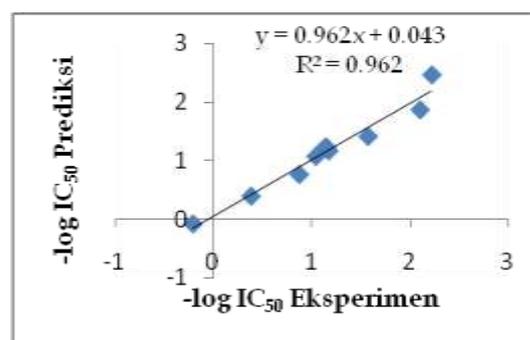
Tabel 8. Hasil nilai -log IC₅₀ prediksi senyawa fenol dan derivat halogen fenol dengan metode PM3

Senyawa	-log IC ₅₀ eksperiment	-log IC ₅₀ prediksi
3- florofenol	0,380	0,399
3- klorofenol	0,870	0,806
3- bromofenol	1,150	1,207
2,4- dibromofenol	1,040	0,965

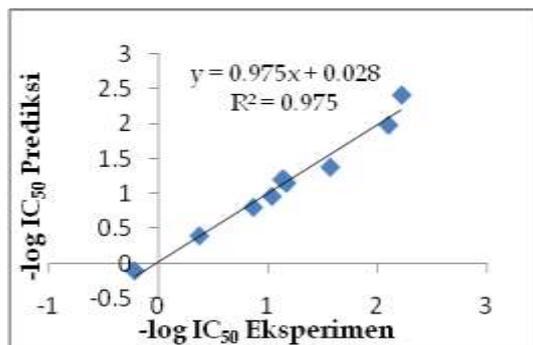
3,5 -diklorofenol	1,570	1,383
3-kloro-4-florofenol	1,130	1,207
2,4,5- triklorofenol	2,100	1,985
2,3,5,6 tetraklorofenol	2,220	2,415
2,3,5,6 tetraflorofenol	1,170	1,153
Fenol	-0,210	-0,101

Pada (Tabel 6) harga R², F, Sig dan PRESS. Maka metode PM3 relatif lebih baik sebagai metode yang digunakan pada HKSA yang diteliti, akan tetapi dilihat dari nilai SD yang terbaik pada metode AM1. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjutan terhadap nilai -log IC₅₀ eksperiment, yang bertujuan untuk menguji nilai akurasi prediksi.

Uji akurasi prediksi dilakukan dengan melakukan perbandingan grafik hubungan nilai -log IC₅₀ eksperiment dengan nilai -log IC₅₀ prediksi dengan metode AM1 dan PM3. Perhitungan uji regresi linear sederhana atau uji akurasi dilakukan terhadap 10 senyawa dengan memasukkan nilai masing-masing data variabel bebas kedalam persamaan regresi multilinear. Dengan menggunakan metode AM1 dapat dilihat pada tabel diatas bahwa nilai residu yang menunjukkan tingkat penyimpangan antara nilai -log IC₅₀ eksperiment dengan nilai -log IC₅₀ prediksi .



Gambar 1. Grafik hubungan nilai -log IC₅₀ eksperiment dengan nilai -log IC₅₀ prediksi senyawa fenol dan derivat halogen fenol dengan metode AM1



Gambar 2. Grafik hubungan nilai $-\log IC_{50}$ eksperimen dengan nilai $-\log IC_{50}$ prediksi senyawa fenol dan derivat halogen fenol dengan metode PM3

Berdasarkan data yang diperoleh, sebaiknya nilai R^2 yang diperoleh sama dengan 1, maka persentase pengaruh yang diberikan variabel bebas terhadap variabel terikat adalah sangat baik dan nilai intersepnya mendekati nol. Dari perbandingan R^2 didapatkan metode PM3 yang relatif lebih baik dibandingkan dengan metode AM1, karena intersep pada metode PM3 lebih mendekati nol yaitu 0,028 dengan kemiringan (slope) yaitu 0,975 yang lebih mendekati nilai 1. (Gambar 1 dan 2) dapat disimpulkan metode PM3 relatif lebih baik digunakan untuk memprediksi aktivitas toksik derivat halogen fenol.

Setelah didapatkan metode yang relatif baik, maka diuji senyawa derivat bromofenol yang belum ada data eksperimennya dengan parameter (muatan atom C_1 , muatan atom O, polarisabilitas, $\log P$, momen dipol, E_{HOMO} dan E_{LUMO}) yang nilai data parameternya didapatkan setelah dihitung dengan program *HyperChem*. 10 senyawa bromofenol yang belum ada data eksperimennya, data parameter yang sudah didapatkan, dimasukkan dalam persamaan HKSA untuk parameter PM3, sehingga didapatkan nilai $-\log IC_{50}$ prediksinya pada (Tabel 9).

Nilai aktivitas toksik prediksi ($-\log IC_{50}$ prediksi) dari 10 senyawa bromofenol yang didapatkan dari model persamaan HKSA yang terbaik dengan metode PM3. Pada (Tabel 9) dapat dilihat pengaruh substituen pada senyawa bromofenol dengan

bertambahnya substituen bromo (-Br) pada senyawa fenol, maka nilai toksik pada senyawa tersebut semakin besar.

Tabel 9. Nilai $-\log IC_{50}$ prediksi pada 10 senyawa bromofenol

No	Senyawa Bromo Fenol	$-\log IC_{50}$ prediksi
1.	2-bromofenol	0,439898
2.	5-bromofenol	2,380608
3.	2,3- dibromofenol	2,924547
4.	2,4- dibromofenol	2,29501
5.	2,6- dibromofenol	4,915778
6.	3,5- dibromofenol	3,697125
7.	2,3,4- tribromofenol	4,511717
8.	2,4,5- tribromofenol	4,0096
9.	2,3,4,5- tetrabromofenol	5,402502
10	2,3,5,6- tetrabromofenol	6,396181

IV. Kesimpulan

Hasil analisa parameter statistik, untuk persamaan regresi multilinear antara $-\log IC_{50}$ dengan parameter struktural dan regresi linier antara $-\log IC_{50}$ prediksi dengan $-\log IC_{50}$ eksperimen didapatkan metode PM3 relatif lebih baik dibandingkan dengan metode AM1. Persamaan Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) toksik derivat halogen fenol dengan parameter struktural yang terbaik didapat dengan menggunakan metode PM3 adalah:
 $-\log IC_{50}$ prediksi = $29,556 + 20,023(qC1) - 21,023(qO) - 0,564(\alpha) + 3,559(\log P) - 0,325(\mu) + 3,151(E_{HOMO}) - 10,074(E_{LUMO})$

Nilai aktivitas toksik $-\log IC_{50}$ senyawa bromofenol yang dihitung berdasarkan persamaan HKSA terbaik adalah metode PM3 menggunakan persamaan regresi multilinear dari nilai terkecil sampai terbesar berturut-turut adalah 2-bromofenol; 2,4-dibromofenol; 5-bromofenol; 2,3-dibromofenol; 3,5-dibromofenol, 2,4,5-tribromofenol; 2,3,4-tribromofenol, 2,6-dibromofenol; 2,3,4,5-tetrabromofenol; 2,3,5,6-tetrabromofenol yaitu sebesar 0,439898; 2,295010; 2,380608; 2,924547;

3,697125; 4,009600; 4,511717; 4,915778;
5,402502; 6,396181.

8. Yan-Fen, P., dan Tian-Bao, L.,(2009). QSAR Study of Halogen Phenols Toxicity to Tetrahymena Pyriformis, *Chinese J. Struct. Chem.*, hal. 218-222

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada analis laboratorium kimia komputasi dan elektrokimia, serta dosen pembimbing yang sudah mengarahkan dan membimbing dalam melakukan penelitian ini .

Referensi

1. Diana, R., Haeruddin dan Rejeki, S., (2003). Efek Fenol Terhadap Tingkat Kerja Osmotik Udang Windu, *Peraeus monodon* Fab, hal. 1-2.
2. Stuckey, B.N., (1981), in *Handbook of Food Additives*, T.E. Furia Ed., CRC Press Inc, Clkeveland. *Journal of Medicinal Chemistry*, hal. 408-428.
3. Burton, G. W. , Ingold, K. U., (1981). "Autoxidation of Biological Molecules and Related Chain-Breaking Phenolic Antioxidants In Vitro", *Journal of the American Chemical Society*, , volume 103, hal. 6472 - 6477.
4. Alim, S., Tahir, I., dan Pradipta, M. F., (2000). Terapan Analisis Hansch Pada Hubungan Struktur Dan Toksisitas Senyawa Fenol Berdasarkan Parameter Teoritik, *Makalah Seminar Nasional Kimia Fisik I*, Malang, hal.1-2.
5. Kubinyi, H., (1993). QSAR : Hansch Analysis and Related Approach, VCH Verlaggesellschaft, Weinheim.
6. Leach, A.R., (1996). Molecular Modelling : Principles and Applications, Addison Wisley, Longman, *Singapore Journal of Chemistry*, hal. 20-34.
7. Tahir, I., Wijaya, K., dan Widianingsih, D., (2003). Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon / Flavonol, *Indonesian Journal of Chemistery* 3(1), hal. 48-54.

PRODUKSI BIOETANOL DARI JERAMI PADI DENGAN METODE SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION (SSF)

Ichsan Marli, Marniati Salim, Zulkarnain Chaidir

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail : Ichsan_marli@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Production of bioethanol from rice straw has been carried out. Rice straw was used as main material for bioethanol production. *Pretreatment* firstly has been done to release cellulose from lignin. By using mixture of NaOH 2% and NH₄OH with varied concentration from 2% to 10%. Ratio of rice straw : mixture of NaOH-NH₄OH in *pretreatment* varied ratio 1:10, 1:15, 1:20. Optimum *pretreatment* resulted in NaOH 2% and NH₄OH 6% with ratio of rice straw and mixture of NaOH-NH₄OH 1:15. Result of rice straw saccharification by using extract of cellulose enzyme from *Trichoderma viride* strain T1 Sk against pure substrat CMC showed enzyme activityas 0.015 unit. Saccharification also has been done against amount of rice straw substrate from 0.1 g to 1 g and saccarification time from 30 to 105 minutes. Maximum concentration of glucose was 182,9 µg/L given by 0,6 g rice straw substrate with optimum saccharification for 60 minutes. Ethanol produced as 2,0151 mL from 3 mL Volume produced for 144 hours fermentation time

Keywords: rice straw, pretreatment, bioethanol, SSF

I. Pendahuluan

Harga bahan bakar minyak yang terus meningkat dan cadangan minyak dunia yang makin terbatas telah mendorong upaya untuk mendapatkan bahan bakar alternatif. Diperkirakan produksi minyak mentah dunia menurun dari 25 miliar barrel menjadi 5 miliar barrel pada tahun 2050. Tidak seperti minyak bumi yang berasal dari fosil, bioetanol adalah sumber energi alternatif yang diproduksi melalui fermentasi gula. Bioetanol dapat diproduksi dari bahan bahan yang mengandung selulosa seperti tongkol jagung, gandum, jerami padi, tebu secara fermentasi¹²³⁴.

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang bisa didegradasi oleh enzim selulase. Bakteri dan fungi keduanya dapat memproduksi selulase untuk menghidrolisis material lignoselulosa⁵.

Bahan lignoselulosa merupakan komponen organik berlimpah dialam, yang terdiri dari 3 polimer yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Menurut Ali Mursyad (2011) komposisi kimia dari jerami padi yaitu selulosa 32.1 %, hemiselulosa 24%, lignin 18%. Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai seperti gula hasil fermentasi, bahan bakar cair, serta energi alternatif⁵.

Jerami padi merupakan salah satu limbah pertanian yang dapat digunakan sebagai bahan baku bioetanol dimana ketersediaannya di Indonesia cukup berlimpah dan pemanfaatannya belum optimal^{6 7}.

Pembuatan bioetanol dari jerami padi dapat dilakukan dengan 4 tahap yaitu

pretreatment, hidrolisis, fermentasi, dan distilasi. Tujuan dari *pretreatment* untuk menghilangkan lignin yang terdapat pada selulosa, hidrolisis bertujuan untuk memecah rantai polisakarida menjadi monosakarida, fermentasi bertujuan untuk mengubah monosakarida menjadi etanol, destilasi bertujuan untuk memisahkan etanol dari komponen-komponen yang tidak diinginkan. Metoda yang digunakan untuk memperoleh bioetanol dari jerami padi yaitu metoda simultan sakarifikasi dan fermentasi (SSF)^{8 9 10}.

Dengan melihat latar belakang diatas maka peneliti tertarik melakukan penelitian "Produksi Bioetanol dari Jerami Padi Dengan Metoda *Saccharification Simultaneous Fermentation* (SSF)" dengan harapan dapat memberikan informasi mengenai cara pembuatan bioetanol dari jerami padi.

II. Metode Penelitian

2.1. Bahan, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah sampel jerami padi, larutan NaOH 5%, larutan NH₄OH 2%, reagen Nelson, reagen Fosfomolibdat, ammonium hidroksida (Merck), natrium hidroksida (Merck), jamur *Trichoderma viride* strain T1 sk, *Saccharomyces cerevisiae*, akuades, glukosa (Merck), medium andreoti, medium YPD, buffer sitrat pH 5.0, buffer Na-asetat 0.2 M pH 5.0, dan PDA (Merck). Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (*Genesys20*), Kromatografi Gas (GC 2010 *Shimadzu*), autoklaf, inkubator, alat-alat gelas.

2.2. Prosedur penelitian

a. Pretreatment sampel

Sampel jerami padi dipotong menjadi potong-potongan kecil. Kemudian sampel tersebut dihaluskan dengan menggunakan gerinda. *Pretreatment* dilakukan dengan menggunakan campuran larutan NaOH 2 % dengan NH₄OH yang konsentrasinya divariasikan 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Sebanyak 10 g sampel direndam dalam campuran larutan ammonium hidroksida (NH₄OH) dan natrium hidroksida (NaOH) dengan variasi perbandingan padatan

(sampel) : cairan (campuran NH₄OH dengan NaOH) 1:10, 1:15, dan 1:20. *Pretreatment* dilakukan selama 24 jam pada suhu 50°C. Kemudian, hasil *pretreatment* disaring dan dicuci dengan menggunakan akuades sampai pH netral (pH 7). Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 50°C dalam oven selama lebih dari 24 jam. Sampel ini siap untuk produksi bioetanol^{11 12 13}.

b. Uji kualitatif lignin

Uji lignin dilakukan dengan beberapa tetes hasil saringan *pretreatment* yang ditambahkan dengan larutan FeCl₃. Uji positif adanya lignin ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah bata pada larutan sampel¹⁴.

c. Pengujian aktivitas enzim selulase

Biakan jamur *Trichoderma viride* strain T1 sk diremajakan terlebih dahulu dengan cara menginokulasikan biakan murni *Trichoderma viride* pada medium agar miring (PDA) secara aseptik. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari dan biakan siap digunakan. Sebanyak 2 tabung reaksi biakan *Trichoderma viride* strain T1 sk yang ditambahkan dengan 10 mL akuades steril, disuspensikan ke dalam 100 mL medium produksi enzim dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Setelah 7 hari, ke dalam medium tersebut ditambahkan 0,2 mL tween 80 0,1% dan disaring. Kemudian, hasil supernatan disentrifus 4000 rpm pada suhu 5°C, selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai ekstrak kasar enzim. Uji aktivitas enzim selulase ditentukan dengan menggunakan metode Somogy-Nelson dengan variasi jumlah jerami padi dengan lama sakarifikasi.

d. Produksi bioetanol

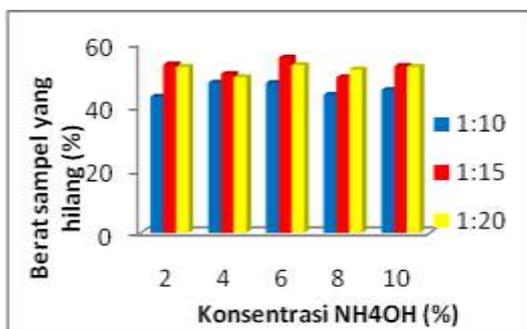
Sebanyak 0,6 g jerami padi ditambahkan dengan 1 g ekstrak ragi dan 2 g pepton, ditempatkan dalam erlenmeyer 250 mL. Selanjutnya 80 mL buffer sitrat 50 mM pH 5 dimasukkan ke dalam erlenmeyer tersebut dan disterilisasi pada 121°C selama 15 menit. Setelah medium dingin, 10 mL ekstrak kasar enzim selulase dan 30 mL inokulum *Saccharomyces cerevisiae*,

disuspensikan ke dalam medium dan diinkubasi dalam *water-bath shaker* 110 rpm pada suhu kamar dengan variasi waktu 48, 72, 96, 120, 144, 168 jam. Hasil fermentasi disaring dan supernatan disentrifus 10000 rpm selama 10 menit pada suhu kamar. Supernatan yang diperoleh didestilasi. Destilat disimpan untuk analisis etanol pada kromatografi gas¹⁵.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pretreatment sampel

Gambar 1 menunjukkan pengurangan berat jerami padi setelah dipretreatment dengan berbagai variasi konsentrasi dan perbandingan padatan (jerami padi) : cairan (NaOH-NH₄OH). Dari gambar 1 dapat dilihat bahwa terjadi pengurangan berat sampel jerami padi setelah dilakukan *pretreatment* dengan berbagai variasi konsentrasi dan perbandingan padatan : cairan yang juga divariasikan. Fungsi utama dari NaOH yaitu mendegradasi lignin dengan memutus ikatan ester sedangkan NH₄OH dapat menyebabkan biomassa terjadi pembengkakan, sehingga terjadi peningkatan luas permukaan, dan menurunkan derajat kristalinitas¹⁶.



Gambar 1. Kurva pengaruh konsentrasi NH₄OH terhadap persentase pengurangan berat jerami padi

- Perbandingan berat jerami padi dengan volume larutan perendam 1:10
- Perbandingan berat jerami padi dengan volume larutan perendam 1:15
- Perbandingan berat jerami padi dengan volume larutan perendam 1:20

Semakin tinggi konsentrasi NH₄OH dan semakin tinggi rasio perbandingan padatan : cairan yang diberikan, semakin tinggi pengaruhnya terhadap kehilangan berat

jerami padi. Namun terdapat beberapa hasil yang menunjukkan adanya penurunan pada proses delignifikasi. Penurunan terjadi pada perbandingan (1:20) hal ini dapat terjadi karena kurang optimumnya kontak antara larutan sampel (NaOH-NH₄OH).

b. Uji kualitatif lignin

uji kualitatif lignin dilakukan dari cairan sampel hasil *pretreatment*. Dengan menggunakan FeCl₃, yang mana cairan tersebut akan berubah menjadi warna merah bata, hal ini menunjukkan bahwa lignin yang ada pada sampel telah larut.

Gambar 2 menunjukkan bahwa cairan hasil *pretreatment* positif mengandung lignin.



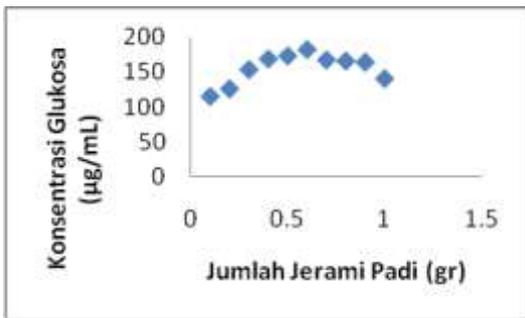
Gambar 2. a. Sebelum ditetesi FeCl₃ dan b. Setelah ditetesi FeCl₃
 A. Hasil penyaringan setelah 2 hari
 B. Hasil penyaringan setelah 5 hari
 C. Hasil penyaringan setelah 7 hari

Lignin yang ada dalam sampel dapat didegradasi dengan menggunakan larutan alkali salah satunya campuran NaOH-NH₄OH. Lignin dengan NaOH akan membentuk garam fenolat, dimana garam ini dapat larut dalam air, yang jika garam ini terbentuk maka ikatan antara lignin dan selulosa akan lepas. Warna merah bata yang terbentuk terjadi karena terbentuk kompleks Fe-fenolat yang terbentuk dari reaksi garam fenolat dengan FeCl₃¹⁴.

c. Pengujian aktivitas enzim

ekstrak enzim selulase yang didapat sebelum digunakan dalam proses SSF, harus dilakukan uji terlebih dahulu terhadap substrat CMC. Substrat CMC yang digunakan yaitu 0.1%. Konsentrasi gula reduksi yang didapat untuk substrat jerami padi setelah dilakukan sakarifikasi

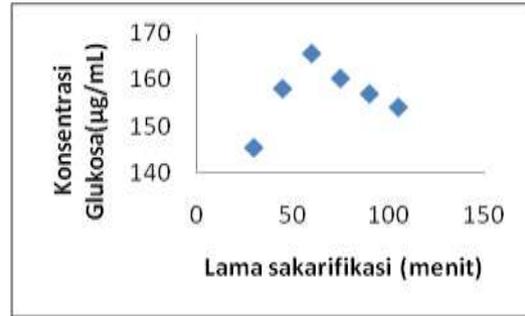
selama 30 menit yaitu sebesar 122,71 $\mu\text{g/mL}$ dengan aktivitas enzim sebesar 0,015 unit. Setelah dilakukan pengujian aktivitas ekstrak enzim terhadap substrat CMC, selanjutnya aktivitas ekstrak enzim diuji terhadap sampel jerami padi dengan variasi jumlah jerami padi dari 0,1g hingga 1 g dengan volume ekstrak enzim tetap yaitu sebesar 3 mL. Pengaruh jumlah ampas tebu terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan dapat dilihat pada kurva berikut :



Gambar 3. Kurva hubungan jumlah jerami padi terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan.

Gambar 3 menunjukkan kemampuan dari enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Semakin besar sampel yang diberikan, semakin besar pula konsentrasi glukosa yang dihasilkan seperti ditunjukkan pada berat sampel 0,6 g menghasilkan glukosa sebesar 182,934 $\mu\text{g/mL}$. Semakin besar jumlah substrat yang diberikan, aktivitas enzim juga akan semakin meningkat karena sisi aktif enzim makin banyak mengikat substrat. Tetapi, pada berat substrat (0,7 g - 1 g), terjadi penurunan konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Hal ini dapat terjadi karena sisi aktif enzim selulase telah membentuk kompleks enzim-substrat sehingga tidak ada lagi sisi aktif enzim yang bebas. Sehingga, semakin besar sampel yang diberikan, tidak akan meningkatkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan.

Hubungan lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa dapat dilihat gambar 4

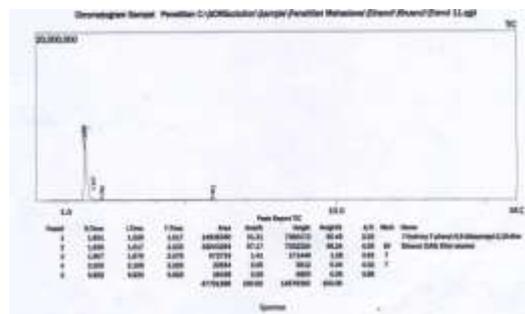


Gambar 4. Kurva pengaruh lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan

Variasi lama sakarifikasi dilakukan terhadap jerami padi 0,6 g selama 30, 45, 60, 75, 90, 105 menit. Variasi lama sakarifikasi dilakukan dengan tujuan untuk menentukan waktu yang optimum untuk enzim menghidrolisis selulosa supaya menghasilkan konsentrasi glukosa yang optimum. Pada penelitian ini didapatkan waktu optimum untuk sakarifikasi adalah pada menit ke 60. Dari gambar di atas terlihat bahwa semakin lama waktu sakarifikasi yang diberikan juga menurunkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan karena stabilitas dan ketahanan ekstrak enzim menurun.

d. Produksi bioetanol

Produksi etanol dilakukan dengan melakukan fermentasi, lama fermentasi yang dilakukan yaitu dari 48 sampai 168 jam dengan menggunakan 30 mL inokulum *Saccharomyces cerevisiae*. Seperti yang ditunjukkan pada gambar 5 :



Gambar 5. Kromatogram bioetanol

Produksi etanol ditentukan oleh banyaknya glukosa yang dikonversi oleh enzim invertase yang dihasilkan oleh inokulum *Saccharomyces cerevisiae*. Semakin besar

jumlah glukosa yang dikonversi, maka akan semakin besar pula jumlah etanol yang dihasilkan. Namun, kinerja dari enzim invertase akan terhambat jika jumlah glukosa yang dihasilkan selama proses sakarifikasi terlalu tinggi. Konsentrasi substrat yang tinggi akan mengurangi jumlah oksigen terlarut sehingga kehidupan *Saccharomyces cerevisiae* akan terganggu. Dari gambar 5 etanol dihasilkan pada lama fermentasi 144 jam, dihasilkan etanol sebesar 2,0151 mL dengan persen area 67,17 % dan waktu retensi 1,630 menit. Selain etanol pada analisis kromatogram terdapat senyawa lain seperti 7-hydroxy-7-phenil-3,9 diisopropil-2,10 diox. Terdapatnya puncak senyawa lain yang muncul menurut Judoamidjojo et al (1989) merupakan produk sampingan dari hasil fermentasi¹⁷.

Jika dibandingkan dengan penelitian Zhuang Zuo (2011), hasil yang diperoleh sangat sedikit. Hal ini dapat disebabkan oleh kondisi *pretreatment* dan enzim yang digunakan berbeda. Pada penelitian ini, enzim yang digunakan berupa ekstrak kasar enzim sehingga tidak hanya selulosa yang akan dikonversi menjadi glukosa tetapi juga dihasilkan enzim hemiselulase yang dapat mendegradasi hemiselulosa menjadi glukosa dan enzim endo-1,4- β -xilanase yang dapat mendegradasi xilan. Sehingga jumlah glukosa yang dihasilkan selama proses sakarifikasi akan semakin banyak. Banyaknya glukosa yang dihasilkan menghambat kerja enzim invertase sehingga etanol yang dihasilkan sedikit. Hal ini juga dapat disebabkan karena waktu fermentasi yang terlalu lama yang telah melebihi dari fasa eksponensial. Fasa eksponensial untuk *Saccharomyces cerevisiae* terjadi pada 36 jam hingga 72 jam. Pada fasa tersebut, terjadi pembelahan sel yang sangat cepat sehingga membutuhkan gula sederhana dalam jumlah yang banyak juga. Sehingga pada saat dilakukan fermentasi bioetanol hingga 84 jam, tidak lagi terjadi pembelahan sel, namun jumlah nutrisi yang semakin berkurang sehingga terjadi kompetisi nutrisi yang menyebabkan beberapa sel mati.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa lignin dapat dilepaskan dari jerami padi dengan menggunakan metode *pretreatment* alkali (NaOH 2%-NH₄OH 6%) dengan persentase penurunan berat sampel sebesar 55,48%, dengan perbandingan padatan (jerami padi) : cairan (NaOH-NH₄OH) (1:15) selama 24 jam pada 50°C. Konsentrasi glukosa maksimum yang dihasilkan oleh enzim selulase dari *Trichoderma viride* strain T1 sk adalah sebesar 182,93 μ g/mL dari 0,6 g jerami padi dengan lama sakarifikasi 60 menit. Aktivitas enzim selulase itu sendiri terhadap substrat murni CMC 0,1% adalah 0,015 unit. Sedangkan etanol yang dihasilkan dengan metode SSF adalah 2,0151 mL dengan persen area kromatogram sebesar 67,17%

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Andalas yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini. Rekan-rekan dan semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan sepenuh hati kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

1. Jefries, T.W., and Y.S Jin, 2000, Ethanol and Thermotolerance in The Bioconversion of Xylose By Yeast, *Appl. Microbiol*, 47, 221-268.
2. Campbell, C.J., Laherrere, J.H, 1998, The end of Cheap Oil, 3, 78-83.
3. Howard, R.L., Abotsi, E., Jansen van Resburg, E.L., and Howard, S., 2003, Lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion and Enzyme Production, *African Journal of Biotechnology*, 2 (12), 602-619.
4. Wang, M., Saricks, C., Santini, D., 1999, Effect of Fuel Ethanol Use On Fuel-Cycle Energy And Greenhouse Gas Emissions, Argonne National Laboratory, Argonne, IL.
5. Mursyad, W.M.A., 2011, Fermentasi Etanol dari jerami Padi, Fakultas

- Pertanian Universitas Veteran Bangun Nusantara.
6. Fatma, H., Abd El-Zaher., and Fadel., **2010**, Production Of Bioethanol Via Enzymatic Saccharification of Rice Straw by Cellulase Produced by *Trichoderma reesei* Under Solid State Fermentation, *New york Science Journal*, 72-78.
 7. Carlile, M.J.,S.C.Watkinson., and G.W.Gooday., **2011**, The Fungi, *2nd Academy Press*, London-California.
 8. Hyun K.T., Taylor. F., and Kevin B. Hicks., **2008**, Bioethanol Production From Barley Hull Using SAA (Soaking in Aqueous ammonia) *Pretreatment*, *Bioresource technology*, 99, 5694-5702.
 9. A.Aden.,M.Ruth.,K.Ibsen, J. Jechura.,K.Neeves., J. Sheehan., B.Wallace., **2002**, Lignocellulosic Biomass to Ethanol Design and Economics Utilizaing Co-Current Dilute Acid Prehydrolysis and Enzymatic Hydrolysis for Corn Stover, *NREL*, *NREL/TP-510-32438*.
 10. Armata, W., Setyaningsih, D., Richana, N.,**2009**, Produksi Bioetanol dari Ubi Kayu Melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan Menggunakan Kultur Campuran *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*.
 11. N.Chinedu,S.,C.Yah,S.,C.Nwinyi,O.,I. Okochi,V.,A.Okafor,U.,andM. Onyegeme, O.B.M., **2008**, Plant Waste Hydrolysis by Ekstracellular Enzymes of *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum* :Effect of Amonium *Pretreatment*, *Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 23 (1), 1-7.
 12. Bagus,W.G.I.I.,Redi,A.W., dan Bagus,N.S.D., **2011**, Produksi Selulase Kasar dari kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi, *Jurnal Biologi*, XV (2), 29-33.
 13. Zuo,Z.,Tian,S.,Chen, Z., and Li,J., **2012**, Soaking *Pretreatment*On Corn Stover For Bioethanol Production Followed By Anaerobic Digestion Process, *Appl Biochem Bioethanol*, 167, 2088-2102.
 14. S.Rosdiana,N.,R.Sarjono,P., S. Mulyani,N., **2013**, Aktivitas *Fusarium oxysporum* Dalam Menghidrolisis Enceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Dengan Variasi Temperatur, *Chem Info*, 1 (1), 220-225.
 15. Setyawati,H.,Astuti, R.N., **2013**, Bioetanol dari Kulit Nanas Dengan Variasi Massa *Saccharomyces cerevisiae* dan Waktu Fermentasi.
 16. Balat, M., Balat, H., Cahide, Oz., **2008**, Progress in Bioethanol Processing : Progres in Energy and Combustion Science, *Elsevier*, 551-573.
 17. Zhu,S.,Wu,Yu.,Yu,Z., and Zhang,Y., **2006**, Comparison of three Microwave/Chemical *pretreatment* Processes for Enzymatic Hydrolysis Of Rice Straw, *Biosystem Engineering*, 93 (3), 279-283.

PRODUKSI BIOETANOL MENGGUNAKAN METODA *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION* (SSF) DARI LIMBAH KULIT NANAS DENGAN PERLAKUAN BASA

Nur Afdila, Marniati Salim, dan Zulkarnain Chaidir

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail : bundosalim@gmail.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The lignocellulosic contents in pineapple peels provide an opportunity to be alternative energy such as bioethanol. Utilization the natural resources as renewable energy are expected able to overcome the issues of energy crisis. The pineapple peels are converted to be bioethanol by using cellulase enzyme from *Trichoderma viride* T1 Sk and *Saccharomyces cerevisiae* yeast by Simultaneous Saccharification Fermentation method. Determination optimum pretreatment was obtained by soaking NH_4OH 8% for 48 hours. Measuring the concentration of reducing sugar at the enzymatical saccharification was obtained 1425,89 mg/L for 105 minutes saccharification time. Assay of the cellulase enzyme activity toward CMC substrate was 0.66 unit/mL. Bioethanol yield was obtained 76,36% of percent area for 1.632 minutes retention time and by GC-MS 3,818 mL of ethanol volume

Keywords: Bioethanol, pretreatment, *Trichoderma viride* strain T1 sk, SSF, *Saccharomyces cerevisiae*.

I. Pendahuluan

Energi merupakan salah satu kebutuhan yang tidak akan pernah ada habisnya, selama masih ada kehidupan maka kebutuhan energi tidak akan pernah berhenti. Energi memiliki peranan yang sangat penting dalam menunjang kelangsungan hidup manusia baik berupa gas, cair maupun padat. Namun yang menjadi masalah utama pada saat sekarang ini adalah kebutuhan manusia yang semakin meningkat tidak diimbangi dengan ketersediaan energi yang menunjang aktivitas manusia itu sendiri. Sumber energi yang beberapa abad ini masih didominasi dari bahan bakar fosil yang jumlahnya terbatas, sehingga sewaktu-waktu bisa habis. Hal ini menjadi dasar pertimbangan utama, dimana saat ini para peneliti berlomba-lomba mencari sumber energi terbarukan, yang bisa

menjadi energi alternatif dalam menggantikan posisi sumber energi yang telah dikenal selama ini seperti minyak bumi, gas alam dan lain sebagainya^[1,2].

Konversi biomassa menjadi bioethanol dengan berbagai teknologi telah dilakukan akhir-akhir ini. Hal ini perlu dilakukan secara optimal dan berkesinambungan sehingga hasil temuan tersebut benar-benar dirasakan nyata manfaatnya dalam kehidupan. Salah satu biomassa yang dapat dimanfaatkan untuk *renewable energi* adalah Limbah organik seperti kulit nanas. Limbah tersebut sudah mulai banyak dilaporkan pemanfaatannya baik secara individu maupun campuran sebagai bahan baku pembuatan bioethanol^[3]. Bioethanol dapat dibuat dari bahan yang mengandung gula

sederhana, pati, maupun bahan berserat melalui proses fermentasi^[4].

Saat ini, penelitian lebih difokuskan pada biomassa berlignoselulosa seperti kulit nanas. Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) adalah salah satu jenis buah yang terdapat di Indonesia yang pemasarannya cukup merata di daerah-daerah Indonesia. Sebagai peluang sumber alternatif energi terbarukan, kulit nanas mengandung karbohidrat 13,7 gram/100 g nanas^[5]. Biomassa ini dianggap sebagai bahan baku yang menjanjikan karena kaya gula dan komponen berlignoselulosa, ketersediaannya melimpah dan biaya produksi yang rendah, sehingga Penggunaan biomassa sisa seperti kulit nanas untuk produksi bioetanol memberikan keuntungan untuk mengubah bahan limbah menjadi produk bernilai harganya^[6,7].

Bahan-bahan lignoselulosa umumnya terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk dihidrolisa. Oleh sebab itu, proses *pretreatment* dan hidrolisa merupakan tahapan proses yang sangat penting yang dapat mempengaruhi perolehan etanol. Proses *pretreatment* dilakukan untuk mengkondisikan bahan-bahan lignoselulosa baik dari segi struktur dan ukuran dengan memecah dan menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kital dari selulosa serta meningkatkan porositas bahan. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa akan turut terurai menjadi senyawa gula sederhana: glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa dan arabinosa. Selanjutnya senyawa-senyawa gula sederhana tersebut yang akan difermentasi oleh mikroorganisme menghasilkan etanol^[8].

Pada penelitian sebelumnya, pembuatan bioethanol dari tongkol jagung dengan metode SSF. *Pretreatment* dilakukan dengan

menggunakan NaOH 1%, NH₄OH 4% dan 8% dengan variasi konsentrasi cairan *pretreatment* 1% NaOH, 8% NH₄OH, 1% NaOH + 4% NH₄OH, dan 1% NaOH + 8% NH₄OH selama 48 jam. Berdasarkan variasi konsentrasi tersebut, cairan dengan konsentrasi 1% NaOH + 8% NH₄OH memberikan hasil pengurangan lignin yang lebih baik. Pada proses SSF, enzim selulase yang digunakan adalah selulase murni dengan mikroorganisme *Pichiastipitis* CBS 6054. Produksi bioetanol dengan metode SSF menghasilkan etanol sebesar 36,1 g/L dengan fermentasi selama 72 jam^[9].

SSF pertama kali dikenalkan oleh Takagi dan teman-temannya pada tahun 1977, yaitu kombinasi antara hidrolisis menggunakan enzim selulase dan yeast *S. cerevisiae* untuk fermentasi gula menjadi etanol secara simultan. Proses SSF sebenarnya hampir sama dengan proses yang terpisah antara hidrolisis dengan enzim dan proses fermentasi, hanya dalam proses SSF hidrolisis dan fermentasi dilakukan dalam satu fermentor^[10].

Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Wijana dkk (1991) tentang biomassa lignoselulosa yang terdapat pada kulit nanas seperti serat kasar 20,87%, gula reduksi 13,65%, lignin 7,07% hal ini memberikan peluang kulit nanas dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan bioethanol^[11]. Pada penelitian ini peneliti ingin melakukan "Produksi Bioetanol Dengan Menggunakan Metoda *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) Dari Limbah Kulit Nanas Dengan Perlakuan Basa", dengan variasi konsentrasi NH₄OH pada suhu *pretreatment* 50°C^[8] dan jamur *Trichoderma viride* strain T1 sk.

II. Metode Penelitian

2.1. Bahan, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah sampel limbah kulit nanas yang diambil di Pasar Raya Padang, kertas saring, ammonium hidroksida (Merck), natrium hidroksida (Merck), jamur *Trichoderma viride* strain T1 sk (Laboratorium Fitopatologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas), ragi dari fermipan yang dibeli di Pasar Raya Padang, natrium karbonat (Merck), natrium tartarat

(Merck), natrium bikarbonat (Merck), natrium sulfat (Merck), tembaga sulfat pentahidrat (Merck), asam sulfat pekat (Merck), natrium tungstat (Merck), asam molibdat (Merck), asam pospat (Merck), akuades, akuabides, KH_2PO_4 (Merck), mangan sulfat heptahidrat (Merck), magnesium sulfat (Merck), kalsium klorida (Merck), ZA, besi sulfat (Merck), Carboxymethyl Cellulose (CMC), zink sulfat (Merck), asam klorida, Tween 80 (Merck), natrium asetat (Merck), asam asetat (Merck), asam sitrat (Merck), natrium sitrat (Merck), pepton (Merck), ekstrak ragi (Merck), glukosa (Merck), dan PDA (Merck). Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (*Genesys20*), Kromatografi Gas (GC 2010 *Shimadzu*), autoklaf, inkubator, neraca analitik, *hot plate*, peralatan gelas, cawan petri, jarum ose, spiritus, penggiling, oven, ayakan, sentrifugator dan *water-bath shaker*.

2.2. Prosedur penelitian

a. Pretreatment sampel

Sampel kulit nanas diblender menjadi *slurry*, kemudian sampel tersebut dijemur dan diayak dengan ayakan. *Pretreatment* dilakukan dengan menggunakan larutan 1% NaOH, 8% NH_4OH , 1% NaOH + 4% NH_4OH , dan 1% NaOH + 8% NH_4OH . Sebanyak 10 g sampel direndam dalam campuran larutan natrium hidroksida (NaOH), ammonium hidroksida (NH_4OH), campuran NH_4OH dan NaOH dengan variasi perbandingan padatan (sampel) : cairan (NaOH), (NH_4OH), campuran NH_4OH dan NaOH 1:10, dengan volume cairan 100 mL untuk. *Pretreatment* dilakukan selama 24,48 dan 72 jam pada suhu 50°C. Kemudian, hasil *pretreatment* disaring dan dicuci dengan menggunakan akuades sampai pH netral (pH 7). Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 50°C dalam oven selama lebih dari 24 jam. Sampel ini siap untuk produksi bioetanol^[9].

b. Uji kualitatif lignin

Uji lignin dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 ke dalam air hasil saringan *pretreatment*. Uji positif adanya lignin pada air sisa saringan

ditandai dengan terbentuknya endapan merah bata pada larutan sampel^[11].

c. Pengujian aktivitas enzim selulase

Sebanyak dua tabung reaksi biakan *Trichoderma viride* strain T1 sk yang telah diremajakan selama 7 hari dalam medium agar miring PDA ditambahkan dengan 10 mL 0,1 % Tween 80 steril. Kemudian disuspensikan dengan 100mL medium produksi enzim, diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Setelah itu, disaring lalu supernatant disentrifugasi pada 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4° C. Kultur supernatan yang diperoleh digunakan sebagai sumber enzim ekstraseluler kasar.

Uji aktivitas enzim selulase ditentukan dengan menggunakan metode Somogy-Nelson dengan variasi massa kulit nanas dan lama sakarifikasi.

d. Produksi bioetanol

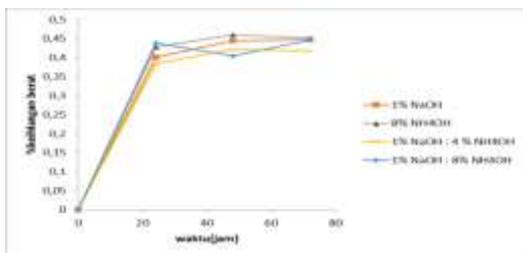
Sebanyak 3,5 g bubuk kulit nanas, 1,0 g ekstrak ragi dan 2.0 g pepton ditempatkan di labu Erlenmeyer 250 mL, buffer sitrat 50 mM pH 5,0 ditambahkan untuk membentuk suspensi 80 mL. Kemudian diautoklaf pada 121°C selama 20 menit. Setelah dingin pada temperatur kamar, 10 mL dari filtrat kultur *Tricoderma viride* strain T1 sk dan 20 mL inokulum *S. cerevisiae* ditambahkan ke dalam erlenmeyer, lalu diinkubasi pada suhu kamar, dishaker pada 110 rpm selama 120 jam. Kemudian disentrifugasi pada 1000 rpm selama 10 menit dan supernatan yang diperoleh didestilasi. Destilat disimpan dalam botol vial untuk analisis etanol pada gas kromatografi.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pretreatment sampel kulit nanas

Pengaruh dari variasi konsentrasi NaOH dan NH_4OH terhadap berat kulit nanas yang hilang selama perendaman. Semakin tinggi konsentrasi NH_4OH yang ditambahkan pada perendaman, maka pemutusan ikatan kompleks (ikatan eter) antara lignin dan selulosa semakin baik. Hal tersebut ditandai dengan semakin besarnya nilai persentase kehilangan berat pada sampel bubuk kulit nanas yang

dipretreatment. Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil pretreatment yang optimum untuk kulit nanas adalah perlakuan konsentrasi NH_4OH 8%(v/v) dengan lama perendaman 48 jam dengan suhu inkubasi 50°C . Pada perendaman 24 jam, kemampuan NH_4OH dalam memutuskan ikatan selulosa dengan lignin masih kecil sehingga endapan yang diperoleh masih banyak mengandung lignin. Ketika ditingkatkan konsentrasi NH_4OH , kehilangan berat kulit nanas yang didapat semakin besar karena banyaknya lignin yang lepas.



Gambar 1. kurva persentase kehilangan berat sampel terhadap waktu perendaman

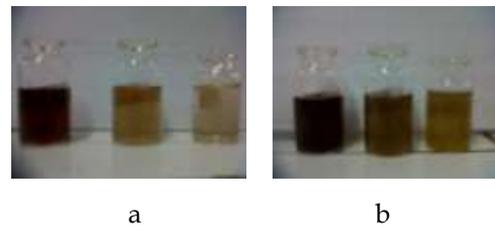
Meningkatnya konsentrasi NH_4OH mengakibatkan semakin banyak ikatan hidroksida yang diputus pada lignin. Sedangkan pada lama perendaman 72 jam terjadi penurunan kehilangan berat dari sampel kulit nanas yang dipretreatment, hal ini disebabkan karena perendaman yang terlalu lama dengan amoniak konsentrasi 8% juga tidak baik dalam memutuskan ikatan lignin dengan selulosa, karena sampel yang dipretreatment memiliki batas kemampuan untuk berkontak dengan larutan pretreatment sehingga proses pretreatment tidak optimal. Begitu juga pada pretreatment dengan menggunakan NaOH 1%, pencampuran NaOH 1% dan NH_4OH 4%, dihasilkan kehilangan berat kulit nanas yang masih rendah dibandingkan dengan NH_4OH 8 %, hal ini karena konsentrasi alkali yang masih rendah juga belum optimal digunakan untuk memutuskan ikatan kompleks antara lignin dan selulosa pada kulit nanas. Sedangkan pretreatment dengan menggunakan konsentrasi larutan alkali yang terlalu tinggi yaitu NaOH 1%: NH_4OH 8% juga tidak optimal untuk memutuskan ikatan lignin dengan selulosa,

karena konsentrasi alkali yang lebih tinggi dari 8% NH_4OH dapat menyebabkan efek samping sampel kulit nanas yang dipretreatment, dimana hal tersebut tidak hanya memutus ikatan kompleks antara lignin dan selulosa tetapi juga dapat merusak struktur selulosa pada kulit nanas^[12].

Perlakuan pretreatment pada suhu 50°C dapat berperan dalam mempercepat dan mengoptimalkan pelepasan ikatan lignoselulosa.

b. Uji kualitatif lignin

Pengujian kualitatif lignin dalam cairan saringan pretreatment diperoleh hasil positif yaitu terbentuknya endapan merah bata pada dasar larutan yang mengindikasikan bahwa dalam cairan hitam hasil hidrolisis alkali terkandung lignin. Hal ini menunjukkan bahwa pada proses *delignifikasi* telah terjadi pelepasan ikatan lignin dengan selulosa dan hemiselulosa pada lignoselulosa kulit nanas.



Gambar 2. a. Sebelum ditetesi FeCl_3 dan b. Setelah ditetesi FeCl_3

c. Pengujian aktivitas enzim selulase

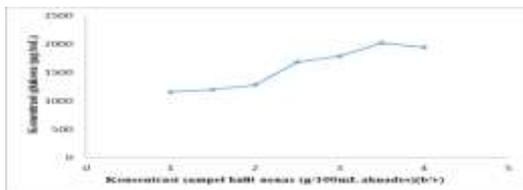
Pengujian aktivitas enzim terhadap substrat CMC

Sebelum digunakan pada proses SSF, enzim selulase yang dihasilkan dari *Trichoderma viride* strain T1 sk diuji aktivitasnya terhadap substrat selulosa murni yaitu CMC. Dalam penelitian ini, CMC yang dipakai sebanyak 0,1 % dalam buffer natrium asetat 0,1 M pH 5,0. Konsentrasi glukosa ditentukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi yang terukur ke dalam persamaan regresi yang diperoleh dari perhitungan kurva standar glukosa. Konsentrasi glukosa yang didapatkan adalah $3586,6 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas

enzim dengan substrat CMC didapatkan 0,66 unit/mL.

Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas Terhadap Kadar Glukosa

Banyaknya substrat akan mempengaruhi konsentrasi glukosa yang didapat. Untuk mengetahui kemampuan enzim selulase dari *Trichoderma viride* strain T1 sk mengubah selulosa pada kulit nanas menjadi glukosa maka ditentukan konsentrasi glukosa hasil sakarifikasi dengan konsentrasi substrat kulit nanas yang bervariasi 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5; 3; 3,5 dan 4 g/100 mL akuades(b/v). Saat variasi konsentrasi kulit nanas yang dilakukan, sudah terlihat perubahan konsentrasi glukosa yang dihasilkan mulai dari 1 sampai 3,5 g/100 mL akuades(b/v) terjadi kenaikan konsentrasi glukosa yang mengindikasikan telah semakin banyak selulosa yang diubah menjadi glukosa. Namun, pada konsentrasi kulit nanas 4 g/100mL akuades (b/v) terjadi penurunan konsentrasi glukosa yang menunjukkan bahwa enzim selulase telah mencapai kondisi optimum kerja pada konsentrasi sampel 3,5 g/100mL akuades (b/v) dalam waktu sakarifikasi selama 30 menit. Sehingga dapat diketahui bahwa dalam batasan waktu sakarifikasi selama 30 menit ternyata kemampuan dari enzim selulase untuk mengubah selulosa menjadi glukosa terbaik sampai konsentrasi substrat 3,5g/100 mL akuades (b/v). Jika konsentrasi sampel ditingkatkan maka dibutuhkan waktu inkubasi yang lebih lama untuk proses sakarifikasi enzim. Pengaruh lamanya inkubasi terhadap proses sakarifikasi dapat dilihat dari grafik berikut:

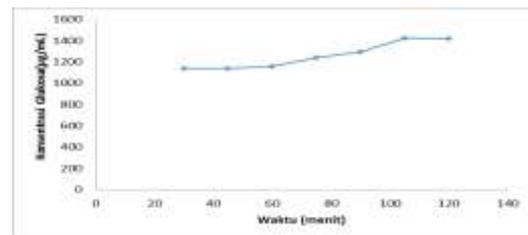


Gambar 3. Hubungan konsentrasi kulit nanas terhadap konsentrasi glukosa

Kurva di atas menunjukkan bahwa hidrolisis enzimatik pada konsentrasi substrat 3,5 g/100 mL akuades menghasilkan konsentrasi glukosa optimum yaitu 2024,11µg/mL.

Pengaruh Lama Sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa

Hubungan lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa dapat dilihat pada kurva di bawah ini :



Gambar 4. Kurva pengaruh lama sakarifikasi terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan

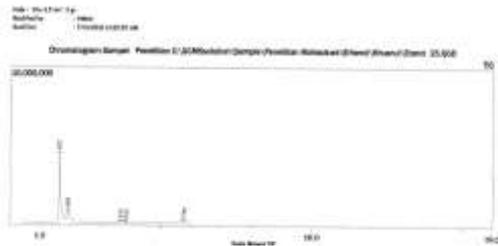
Dari kurva di atas dapat dilihat terjadi peningkatan konsentrasi glukosa dari 30 menit sampai 105 menit. Kenaikan terlihat lebih signifikan dibandingkan dari waktu 105 menit sampai 120 menit. Dengan demikian interaksi tumbukan antara sisi aktif enzim dengan substrat kulit nanas telah optimumnya. Penambahan waktu sakarifikasi menjadi 120 menit tidak lagi memberikan perubahan yang signifikan terhadap konsentrasi glukosa yang dihasilkan sehingga enzim hanya optimum bekerja selama 105 menit untuk 3,5 g/100 mL suspensi substrat yang ditambahkan. Konsentrasi glukosa tertinggi adalah 1425,89 µg/mL untuk lama sakarifikasi 105 menit.

d. Produksi bioetanol

Produksi bioetanol dari kulit nanas pada penelitian ini dilakukan dengan metoda metoda *Simultan Sakarifikasi dan Fermentasi* (SSF) dimana proses sakarifikasi dan fermentasi berlangsung secara serentak dalam satu wadah yang sama. Fermentasi yang berlangsung secara *bacth*, yaitu pada tahap awal fermentasi 10 mL *crude enzim*, suspensi kulit nanas dan 20 mL inokulum ragi dicampurkan dalam satu erlenmeyer lalu dishaker dengan kecepatan 110 rpm

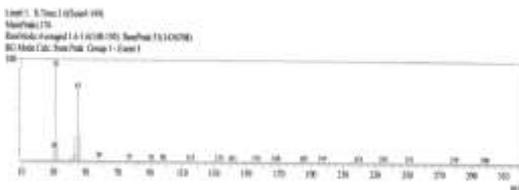
selama 120 jam, selama fermentasi berlangsung tidak dilakukan penambahan substrat, medium dan inokulum sampai dihasilkan produk bioetanol. Selama fermentasi terjadi proses sakarifikasi selulosa menjadi glukosa/gula reduksi oleh enzim selulase dari *Trichoderma viride strain T1 sk*. Kemudian diikuti secara langsung dengan proses fermentasi glukosa yang dihasilkan menjadi etanol dengan bantuan *Saccharomyces Cerevisiae*. Analisis untuk mengetahui ada atau tidaknya etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi dilakukan setelah sampel hasil fermentasi disentrifus dan didestilasi, hal ini bertujuan agar produk etanol yang dihasilkan lebih murni. Kemudian baru dilakukan penginjeksikan dengan menggunakan *syringe* ke alat GC-MS.

Pola kromatogram hasil analisis dengan GC-MS terhadap sampel dengan lama fermentasi 120 jam dapat dilihat pada kromatogram berikut :



Gambar 5 : Pola Kromatogram analisis GC-MS pada lama fermentasi 120 jam

Dari gambar tersebut senyawa etanol muncul pada waktu retensi 1,632 menit dan memiliki persen area 76,36% dengan volume etanol yang dihasilkan adalah 3,818 mL. Menurut Judoamidjojo et al(1989) senyawa selain senyawa etanol yang muncul merupakan produk sampingan dari hasil fermentasi etanol^[13]. Pola fragmentasi etanol dapat dapat disamakan dengan melihat spektra massa etanol.



Gambar 6 : Pola fragmentasi etanol pada MS

Berdasarkan pola fragmentasi pada spektroskopi massa, diketahui senyawa puncak dasar ion molekul (M^+) dengan $m/z = 31$ menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah etanol.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa limbah kulit nanas dapat diproduksi menjadi bioetanol dengan metoda *simultaneous saccharification fermentation* (SSF) dengan *pretreatment* menggunakan basa NaOH dan NH_4OH . *Pretreatment* kulit nanas didapatkan optimum pada konsentrasi NH_4OH 8 % dengan lama perendaman selama 48 jam.

Enzim selulase yang diproduksi dari *Trichoderma viride strain T1 sk* dapat menghidrolisis substrat kulit nanas yang mengandung selulosa menjadi glukosa dengan glukosa optimum yang dihasilkan adalah 1425,89 $\mu g/mL$ pada konsentrasi kulit nanas 3,5 g/100 mL akuades dengan lama sakarifikasi 105 menit. Kadar glukosa yang cukup tinggi memberikan peluang yang baik untuk kulit nanas sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Aktifitas enzim selulase dari *Trichoderma viride strain T1 sk* dengan substrat CMC 0,1 % adalah 0,66 unit/mL. Metoda SSF merupakan metoda modifikasi yang baik pada proses fermentasi bahan mentah menjadi bioetanol dengan persen area etanol yang dihasilkan adalah 76,36% dengan volume etanol dihasilkan adalah 3,818 mL.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Andalas, Analis Laboratorium Kesehatan Padang yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini. Rekan-rekan dan semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan sepenuh hati kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

1. Naiman, M.A., 2011, Production of bioethanol fuel from renewable agrobased cellulosic wastes and waste news papers, *International Journal of Engineering Science and Technology (IJEST)*, Vol. 3 No. 2, 884-893.
2. Marina O.S. Dias, Adriano V. Ensinas, Silvia A. Nebra, Rubens Maciel Filho, Carlos E.V. Rossell, Maria Regina Wolf Maciel, 2009, Production of bioethanol and other bio-based materials from sugarcane bagasse: Integration to conventional bioethanol production process. *chemical engineering research and design*, 1206-1216.
3. Fitriana, lila, 2009, Analisis Kadar Bioetanol dari Hasil Fermentasi Pati Sagu (*Metroxylon sago*) Asal Papua, *Skripsi*, Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Papua. Manokwari, 5-6.
4. Azizah, N.N. AlBaari, S. Mulyani, 2012, Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, Dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, Vol. 1 No. 2, 72-77
5. Joy, PP, 2010, Benefits and Uses of Pineapple. *Pineapple Research Station Jurnal*.
6. De Prados, M., Seguí, L. Fito, P, 2010, Industrial Pineapple Waste As A Feasible Source To Produce Bioethanol, *International Conference and Food Inovation*, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD), Universidad Politécnica de Valencia, camino de Vera s/n, C.P. 46822, Valencia, Spain. 1-4.
7. Reddy, L.V., Obulam Vijaya Sarathi Reddy and Young-Jung Wee, 2011, Production of ethanol from mango (*Mangifera indica* L.) peel by *Saccharomyces cerevisiae* CFTRI101, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(20), pp. 4183-4189.
8. R. Orchidea, dkk, 2010, Pengaruh Metode Pretreatment pada Bahan Lignosellulosa terhadap Kualitas Hidrolisat yang dihasilkan, *Makalah Seminar Nasional Teknik Kimia Soeardjo Brotohardjono Ketahanan Pangan Dan Energi*, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, ISSN 1978 - 0427, 2-3
9. Zuo, Zuang, Shen Tian, Zebing Chen, Jia Li, Xiushan Yang, 2012, Soaking Pretreatment of Corn stover For Bioethanol Production Followed by Anaerobic Digestion Process, *Appl Biochem biotechol*, Springer, 2088-2102.
10. Samsuri, N, M. Gozan, dkk, 2007, Pemanfaatan Sellulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak Dengan Enzim Xylanase. *Makalah, Teknologi*, Vol. 11, No. 1, 17-24.
11. S. Rosdiana, N., R. Sarjono, P., S. Mulyani, N, 2013, Aktivitas *Fusarium oxysporum* Dalam Menghidrolisis Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Dengan Variasi Temperatur, *Chem Info*, 1 (1), 220-225.
12. Pasaribu, F.L., dkk, 2010, Pengaruh Konsentrasi Substrat Dan Waktu Fermentasi Pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas (*Ananas Comosus* L. Merr) Untuk Produksi Enzim Selulase, *e-Jurnal Unri*, Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Riau, 2-7.
13. Lubis, A. A., 2007, Isolasi Lignin Dari Lindi Hitam (*Black Liquor*) Proses Pemasakan Pulp Soda Dan Pulp Sulfat (*Kraft*), *skripsi*, Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian.
14. Putri, L. S., Eka, Dede Sukandar, 2008, Konversi Pati Ganyong (*Canna Edulis* Ker.) Menjadi Bioetanol Melalui Hidrolisis Asam Dan Fermentasi, *BIODIVERSITAS*, volume 9, Nomor 2, 112-116.
15. Ferreira, Verônica, 2010, Simultaneous Saccharification And Fermentation Process Of Different Cellulosic Substrates Using A Recombinant *Saccharomyces Cerevisiae* harbouring The B-Glucosidase Gene, *Electronic Journal Of Biotechnology* Vol. 13 No. 2.

OPTIMASI PENENTUAN Ni(II) DAN Fe(II) SECARA SIMULTAN DENGAN VOLTAMMETRI STRIPING ADSORPTIF (AdSV)

Raesa Pratiwi Putri, Deswati, Hamzar Suyani

[†]Laboratorium instrumen, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: deswati_ua@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

A selective and sensitive adsorption stripping voltammetry (AdSV) procedure for the simultaneous determination of nickel and iron was conducted. The aim of this research is to get optimum condition for simultaneous determination of nickel and iron. Adsorptive stripping voltammetry has been used for determination of trace amount Ni(II) and Fe(II) by using calcon as a complexing agent. The parameters studied were variation of calcon concentration, pH, accumulation potential and accumulation time. In this study, the optimum conditions were calcon concentration of 0.6 mM, pH = 7.0, accumulation potential of -0.2 V and accumulation time of 110 sec. at the optimum conditions, the relative standard deviation were 10.45% for Ni(II) and 1.06% for Fe(II) respectively for 8 replicates (n=8) measurements of 50 µg/L for Ni(II) and 10 µg/L for Fe(II). The method was applied to the direct simultaneous determination of Ni(II) and Fe(II) in crane water, river water of Batu Busuk and sea water around Bungus, Padang City. Concentration of Ni(II) and Fe(II) in samples crane water were equal to 2.04 µg/L for Ni(II) and 198.84 µg/L for Fe(II), in the river water a Batu Busuk are 1.72 µg/L for Ni(II) and 264.71 µg/L for Fe(II) and from the sea water of Bungus Padang are 19.35 µg/L for Ni(II) and 441.31 µg/L for Fe(II) with recovery of 78.84% for Ni(II) and 100.24% for Fe(II), respectively.

Keywords: Nickel, Iron, Simultant, Adsorptif Stripping Voltammetry

I. Pendahuluan

Logam berat yang mencemari lingkungan, sebagian besar disebarkan melalui jalur air. Proses ini akan lebih cepat memasuki tubuh manusia melalui rantai makanan. Apabila suatu logam terakumulasi pada jaringan hewan dan tumbuhan yang kemudian dikonsumsi manusia tentunya manusia sebagai rantai makanan tertinggi pada piramida makanan, maka dalam tubuhnya akan terakumulasi logam berat tersebut. Peristiwa ini biasanya dinamakan pembesaran biologi¹.

Pencemaran logam pada dasarnya tidak berdiri sendiri, namun dapat terbawa oleh air, tanah dan udara. Apabila semua komponen tersebut telah tercemar oleh senyawa anorganik, maka di dalamnya kemungkinan dapat mengandung berbagai logam berat seperti Cr, Zn, Pb, Cd, Fe, Ni dan sebagainya¹.

Kadar ion logam dalam air laut sekitar 10^{-5} sampai 10^{-2} mg/L, sementara matriks sampel cukup tinggi. Untuk itu diperlukan suatu metoda yang sangat sensitif untuk mendeteksi keberadaan logam tersebut secara serentak².

Untuk menentukan logam berat seperti Ni dan Fe dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metoda, seperti Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)³, ICP⁴, dan FAAS⁵. Metoda ini dapat menentukan kadar logam yang sangat kompleks secara cepat, sensitif, dan sangat spesifik untuk unsur-unsur yang ditentukan⁶. Tetapi metoda ini harus dilakukan proses ekstraksi pelarut terlebih dahulu dengan menggunakan banyak pelarut dan matrik yang tinggi pada sampel air laut akan mengganggu proses pengatoman. Oleh karena itu, diperlukan metoda alternatif yang dapat mengatasi masalah tersebut. Voltametri stripping adsorptif dipilih sebagai alternatif metode analisis karena memiliki sensitivitas tinggi, selektif, dapat menentukan spesi dari ion logam yang diinginkan, limit deteksi rendah pada skala $\mu\text{g/L}$, dapat mengukur logam secara simultan, penggunaannya mudah dan preparasi sampel yang mudah⁷. Disamping itu, dengan metoda ini dimungkinkan mempelajari spesi kimia dari logam berat⁸, yang tidak bisa dilakukan dengan metoda lain, Metoda ini bisa dilakukan untuk penentuan secara simultan Cu dan Pb dalam air laut dengan menggunakan kalkon sebagai pengompleks⁹. Pada voltametri stripping adsorptif, tahap prekonsentrasinya membutuhkan waktu yang lebih singkat, umumnya kurang dari 1 menit^{10,11}.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut, sampel air Kran, air sungai Batu Busuk, Air Laut Bungus Padang, Gas Nitrogen, Asam nitrat (HNO_3) 96% (Merck), Asam asetat (CH_3COOH) (Merck), Asam klorida (HCl) 30% (Merck), amonium asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_3$), Amonium hidroksida (NH_4OH), aquabides, kalkon, metanol, ammonium besi(II) sulfat heksahidrat ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), nikel(II) klorida heksahidrat ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Fluka).

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

2.2. Prosedur penelitian

Pembuatan Larutan KCl 3 M

Ditimbang KCl sebanyak 22,37 g dan dilarutkan dengan aquabides dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan KCl 0,1 M

Diambil KCl 3 M sebanyak 3,3 mL dan dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Induk $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1000 mg/L

Ditimbang $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,7023 g dan dilarutkan dengan aquabides dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Induk $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1000 mg/L

Ditimbang $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,4049 g dan dilarutkan dengan aquabides dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Standar Campuran Fe dan Ni

Larutan standar campuran Ni dan Fe masing-masing 50 mg/L dan 10 mg/L dibuat dengan mencampurkan 5 mL larutan induk Ni 1000 mg/L dan 1 mL larutan induk Fe 1000 mg/L diencerkan dalam labu 100 mL dengan aquabides sampai tanda batas. Kemudian dibuat larutan standar campuran 5 mg/L Ni dan 1 mg/L Fe dengan melarutkan 10 mL larutan standar campuran 50 mg/L Ni dan 10 mg/L Fe dengan aquabides dengan labu ukur 100 mL. Dari larutan standar campuran 5 mg/L Ni dan 1 mg/L Fe, dibuat larutan standar campuran 500 $\mu\text{g/L}$ Ni dan 100 $\mu\text{g/L}$ Fe dengan melarutkan 10 mL larutan standar campuran 5 $\mu\text{g/L}$ Ni dan 1 mg/L Fe dengan

akuabides dalam labu ukur 100 mL. Kemudian dibuat larutan standar campuran 50 µg/L Ni dan 10 µg/L Fe dengan melarutkan 10 mL larutan standar campuran 500 µg/L Ni dan 100 µg/L Fe dengan akuabides dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Kalkon 1 mM

Ditimbang kalkon sebanyak 0,0042 g dan dilarutkan dengan metanol dalam labu 100 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Kalkon

Larutan standar kalkon dibuat dengan mengencerkan larutan induk 1 mM pengenceran dari larutan kalkon 1 mM untuk (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9) mM dilarutkan dengan akuabides dalam labu 10 mL sampai tanda batas.

Pembuatan Buffer Asetat

- a) A : larutan asam asetat 0,2 M (dibuat dari 2,92 mL asam asetat 17,14 M dalam labu 250 mL)¹².
- b) B : larutan amonium asetat 0,2 M (3,8540 g amonium asetat dilarutkan dalam labu 250 mL)¹².
- x mL A + y mL B, dilarutkan sampai volume total 25 mL.

Tabel 1. Perbandingan volume asam asetat dan amonium asetat¹².

X	y	pH
24,5	0,5	3
21	4	4
9	16	5
1,5	23,5	6

Pembuatan Buffer Amoniak

- c) A : larutan amoniak 0,2 M (dibuat dari 3,8 mL amoniak 13,26 M dilarutkan dalam labu 250 mL)¹².
- d) B : larutan amonium asetat 0,2 M (3,8540 g amonium asetat dilarutkan dalam 250 mL akuabides)¹².
- x mL A + y mL B, dilarutkan sampai volume total 25 mL

Tabel 2. Perbandingan volume amoniak dan amonium asetat

x	y	pH
0,2	24,8	7
1,5	23,5	8
9	16	9

Prosedur Kerja

Disiapkan larutan campuran Ni(II) dan Fe(II) masing-masing 50 µg/L Ni dan 10 µg/L Fe, larutan buffer, larutan pengomplek, dan larutan elektrolit pendukung. Pada alat diatur waktu akumulasi, potensial akumulasi, dan potensial scan. Kemudian dilakukan pengukuran, sehingga didapat voltamogram Ni(II) dan Fe(II) pada potensial scan yang telah diatur.

Penentuan Kondisi Optimum dengan Variasi Konsentrasi Kalkon

Dimasukkan 10 mL larutan standar campuran Ni(II) 50 µg/L dan Fe 10 µg/L ke dalam vessel dan ditambahkan 0,2 mL buffer amonium asetat pH 6. Kemudian ditambahkan 0,2 mL KCl 0,1 M dan 0,2 mL konsentrasi larutan kalkon 0,1 mM. Dilakukan pengukuran larutan dengan potensial akumulasi -0,5 V dan waktu akumulasi 80 s. Pada kondisi pengukuran yang sama, dilakukan pengukuran untuk konsentrasi larutan kalkon 0,2 mM; 0,3 mM; 0,4 mM; 0,5 mM; 0,6 mM; 0,7 mM; 0,8 mM dan 0,9 mM. Selanjutnya dialurkan kurva antara konsentrasi kalkon Vs *Peak current* (I_p). Kemudian didapatkan konsentrasi kalkon optimum.

Penentuan Kondisi Optimum dengan Variasi pH Larutan

Dimasukkan 10 mL larutan standar campuran Ni(II) 50 µg/L dan Fe 10 µg/L ke dalam vessel dan ditambahkan 0,2 mL buffer amonium asetat pH 3. Kemudian ditambahkan 0,2 mL KCl 0,1 M dan 0,2 mL larutan kalkon dengan konsentrasi optimum. Dilakukan pengukuran larutan dengan potensial akumulasi -0,5 V dan waktu akumulasi 80 s. Pada kondisi pengukuran yang sama, dilakukan

pengukuran untuk pH larutan 3 sampai 10. Selanjutnya dialurkan kurva antara pH larutan Vs *Peak current* (I_p). Kemudian didapatkan pH larutan optimum.

Penentuan Kondisi Optimum dengan Variasi Potensial Akumulasi

Dimasukkan 10 mL larutan standar campuran Ni(II) 50 $\mu\text{g/L}$ dan Fe 10 $\mu\text{g/L}$ ke dalam vessel dan ditambahkan 0,2 mL buffer amonium asetat pH 7. Kemudian ditambahkan 0,2 mL KCl 0,1 M dan 0,2 mL larutan kalkon konsentrasi optimum. Dilakukan pengukuran larutan dengan potensial akumulasi -0,1 V dan waktu akumulasi 80 s. Pada kondisi pengukuran yang sama, dilakukan pengukuran untuk potensial -0,1 V sampai -0,6 V. Selanjutnya dialurkan kurva antara potensial akumulasi Vs *Peak current* (I_p). Kemudian didapatkan potensial akumulasi optimum.

Penentuan Kondisi Optimum dengan Variasi Waktu Akumulasi

Dimasukkan 10 mL larutan standar campuran Ni(II) 50 $\mu\text{g/L}$ dan Fe 10 $\mu\text{g/L}$ ke dalam vessel dan ditambahkan 0,2 mL buffer amonium asetat pH 7. Kemudian ditambahkan 0,2 mL KCl 0,1 M dan 0,2 mL larutan kalkon konsentrasi optimum. Dilakukan pengukuran larutan dengan potensial akumulasi optimum dan waktu akumulasi 20 s. Pada kondisi pengukuran yang sama, dilakukan pengukuran untuk waktu 20 s sampai 130 s. Selanjutnya dialurkan kurva antara waktu akumulasi Vs *Peak current* (I_p). Kemudian didapatkan waktu akumulasi optimum.

Penentuan Standar Deviasi Relatif

Dimasukkan 10 mL larutan standar campuran Ni(II) 50 $\mu\text{g/L}$ dan Fe 10 $\mu\text{g/L}$ ke dalam vessel dan ditambahkan 0,2 mL buffer amonium asetat pH optimum. Kemudian ditambahkan 0,2 mL KCl 0,1 M dan 0,2 mL kalkon optimum. Dilakukan pengukuran dengan potensial dan waktu akumulasi optimum. Dilakukan pengulangan sebanyak kali ($n=8$). Kemudian ditentukan nilai standar deviasi relatif dengan menggunakan rumus:

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
$$\text{SDR} = \frac{S}{x} \times 100 \%$$

Keterangan :

S = Standar deviasi/ simpangan baku

\bar{x} = nilai rata-rata

Analisis Sampel

Dimasukkan 10 mL larutan sampel ke dalam vessel voltammeter. Kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan potensial akumulasi optimum, waktu akumulasi optimum, konsentrasi kalkon optimum, dan pH larutan optimum yang didapatkan pada keempat prosedur diatas. Kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan metoda standar adisi untuk mendapatkan konsentrasi Ni(II) dan Fe(II) dalam sampel

Penentuan Perolehan Kembali

Penentuan perolehan kembali dilakukan dengan menggunakan sampel yang diukur. Persen perolehan kembali diperoleh dari perbandingan konsentrasi sampel yang diperoleh dari pengukuran dengan sejumlah konsentrasi standar dan sampel. % perolehan kembali dihitung dengan rumus:¹³

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

Keterangan :

B = Konsentrasi sampel yang diperoleh

A = Konsentrasi sampel

C = Konsentrasi standar ditambahkan

III. Hasil dan Pembahasan

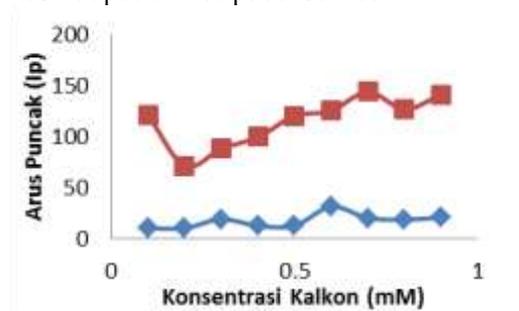
Kondisi Optimum Pengukuran

Pada penelitian ini dilakukan penentuan Ni(II) dan Fe(II) secara simultan dengan Voltametri Striping Adsorptif (AdSV). Penentuan kondisi optimum telah dilakukan terhadap empat parameter yaitu variasi konsentrasi kalkon, variasi pH,

variasi potensial akumulasi, dan waktu akumulasi.

Variasi Konsentrasi Kalkon

hubungan antara konsentrasi kalkon dengan arus puncak terhadap larutan standar Ni(II) 50 µg/L dan Fe(II) 10 µg/L dengan potensial akumulasi -0,5 Volt, waktu akumulasi 80 detik dan pH 6. Adapun variasi konsentrasi kalkon antara lain : 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,7 ; 0,8 dan 0,9 mM.. Hasil dapat dilihat pada Gambar 1 :



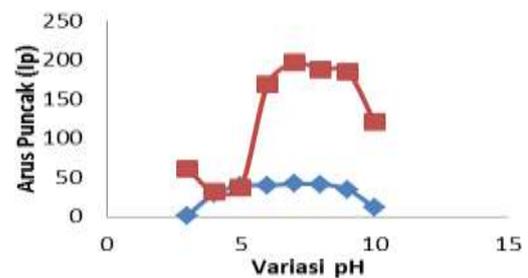
Gambar 1. Kurva hubungan konsentrasi kalkon (mM) Vs arus puncak (nA). Kondisi pengukuran: larutan standar Ni(II) 50 µg/L (—♦—); larutan standar Fe(II) 10 µg/L (—■—); KCl 0,1 M; pH 6; potensial akumulasi -0,5 V; waktu akumulasi 80 detik.

Dari Gambar 1 terlihat bahwa, awalnya arus puncak mengalami penurunan lalu meningkat dengan bertambahnya konsentrasi kalkon di bawah 0,7 mM untuk Fe(II). Ini terjadi karena masih terdapat ion Fe²⁺ yang belum membentuk senyawa kompleks dengan kalkon. Pada konsentrasi kalkon di atas 0,7 mM terjadi penurunan arus puncak. Hal ini disebabkan karena terjadinya kompetisi antar ligan untuk teradsorpsi pada permukaan elektroda dan membentuk kompleks dengan ion logam. Sedangkan untuk logam Ni(II) terjadi peningkatan arus dari konsentrasi kalkon 0,1 mM - 0,6 mM, ini menunjukkan pembentukan kompleks Ni(II) dengan kalkon semakin meningkat. Pada konsentrasi kalkon di atas 0,6 mM terjadi penurunan arus puncak, karena terjadi kompetisi antar pengompleks sebagai ligan dalam berikatan dengan ion logam sehingga

arus menurun. Untuk itu konsentrasi kalkon 0,6 mM dipilih sebagai kondisi optimum dengan alasan pada konsentrasi kalkon 0,6 mM terjadinya arus kompromi kompleks logam Ni dan Fe.

Variasi pH

Pada penelitian ini ditentukan kondisi optimum pH larutan Ni(II) dan Fe(II) yang konsentrasinya 50 µg/L dan 10 µg/L. pH berperan dalam meningkatkan jumlah senyawa kompleks atau ion asosiasi yang terbentuk pada proses adsorpsi pada elektroda HMDE dan mempengaruhi kestabilannya.



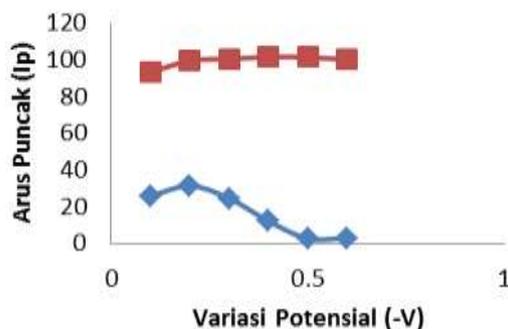
Gambar 2. Kurva hubungan pH larutan Vs arus puncak (nA). Kondisi pengukuran: larutan standar Ni(II) 50 µg/L (—♦—); larutan standar Fe(II) 10 µg/L (—■—); potensial akumulasi -0,5 V; waktu akumulasi 80 detik; konsentrasi kalkon optimum 0,6 mM.

Dari Gambar 2 terlihat pengaruh pH terhadap arus puncak (Ip) pada analisa Ni(II) dan Fe(II) didapatkan kondisi optimum pada pH 7. Pada pH 7 ini terbentuk kompleks yang stabil antara ion Ni²⁺ dan Fe²⁺ dengan kalkon dan membentuk asosiasi ion dalam jumlah yang banyak sehingga dapat meningkatkan arus puncak. Pada pH yang lebih kecil dari 7 arus puncak rendah karena masih terdapat kelebihan proton yang dapat berkompetisi dengan ion Ni²⁺ dan Fe²⁺ membentuk kompleks lain. Sebaliknya, pada pH yang lebih besar dari pH 7 terjadi penurunan nilai arus puncak akibat adanya ion H⁺, serta ion OH⁻ sehingga menyebabkan ion logam membentuk hidroksidanya sehingga arus yang terukur akan menurun¹⁴. Untuk itu pH

7 dipilih sebagai kondisi optimum dalam analisa selanjutnya.

Variasi Potensial Akumulasi

Dalam penelitian ini dilakukan penentuan hubungan antara potensial akumulasi dan arus puncak yang diuji pada rentang -0,1 V sampai dengan -0,6 V. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 3.

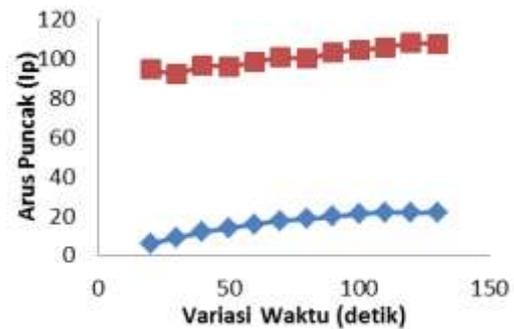


Gambar 3. Kurva hubungan potensial akumulasi (-V) Vs arus puncak (nA). Kondisi pengukuran: larutan standar Ni(II) 50 µg/L (—◆—); larutan standar Fe(II) 10 µg/L (—■—); KCl 0,1 M; kalkon 0,6 mM; pH 7; waktu akumulasi 80 detik.

Potensial akumulasi adalah potensial pada saat analit terdeposisi pada elektroda kerja. Pada gambar 3 dapat dilihat bahwa pada setiap variasi potensial akumulasi yang diuji, memberikan nilai arus puncak yang berbeda. Pada potensial akumulasi -0,1V sampai -0,2V kurva naik secara signifikan, hal ini menyatakan terjadi proses deposisi kompleks analit pada permukaan elektroda kerja yang belum mencapai maksimum. Pada rentang potensial -0,3 sampai -0,6 V kurva turun, Hal ini disebabkan karena terjadi proses reduksi kompleks analit selama proses deposisi berlangsung, sehingga arus puncak yang didapatkan pada saat pengukuran menjadi menurun. Jadi terjadi proses deposisi kompleks analit pada permukaan elektroda kerja yang mencapai maksimum di -0,2 V. Potensial akumulasi -0,2 V digunakan pada penentuan selanjutnya.

Variasi Waktu Akumulasi

Penelitian selanjutnya dilakukan penentuan kondisi optimum waktu akumulasi. Waktu akumulasi yang diberikan pada penelitian ini dimulai dari 20 detik sampai 130 detik. Hasil yang telah didapat dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva hubungan waktu akumulasi (s) Vs arus puncak (nA). Kondisi pengukuran: larutan standar Ni(II) 50 µg/L (—◆—); larutan standar Fe(II) 10 µg/L (—■—); KCl 0,1 M; kalkon 0,6 mM; pH 7; potensial akumulasi optimum -0,2 V.

Waktu akumulasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh analit untuk melakukan deposisi ke elektroda kerja. Pada kurva di atas dapat dilihat bahwa arus puncak meningkat mulai dari 20 detik sampai 130 detik. Secara teori, semakin lama waktu deposisi maka akan semakin banyak analit yang terdeposisi pada elektroda kerja dan arus puncak yang dihasilkan akan besar pada saat terjadi striping. Tetapi pada penelitian, arus puncak menurun pada waktu 120 detik. Hal ini terjadi karena adanya kejenuhan pada elektroda kerja sehingga pada saat proses deposisi berlangsung, kompleks analit akan sulit untuk tereduksi yang mengakibatkan arus puncak yang dihasilkan kecil. Pada waktu akumulasi 110 detik, semua analit telah terdeposisi sempurna sehingga menghasilkan arus puncak yang tinggi. Dengan demikian waktu akumulasi 110 detik yang dipilih sebagai waktu akumulasi optimum dan dapat dipakai untuk penelitian selanjutnya.

Analisis Validasi

Standar Deviasi Relatif (SDR)

Pada tahap selanjutnya dilakukan pengukuran Standar Deviasi Relatif (SDR). SDR dilakukan untuk menentukan ketelitian suatu metoda pada kondisi yang sama dengan jarak waktu yang tidak terlalu berbeda. Pengukuran SDR dilakukan 8 kali pengulangan, dimana konsentrasi logam Ni(II) adalah 50 µg/L dan konsentrasi logam Fe(II) adalah 10 µg/L. Kondisi pengukuran yang digunakan adalah kondisi optimum yang telah didapat sebelumnya, yaitu: potensial akumulasi optimum -0,2 V, waktu akumulasi optimum 110 detik, konsentrasi kalkon optimum 0,6 mM, dan pH optimum larutan yaitu 7. Hasil yang telah didapat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran larutan standar Ni(II) 50 µg/L dan Fe(II) 10 µg/L

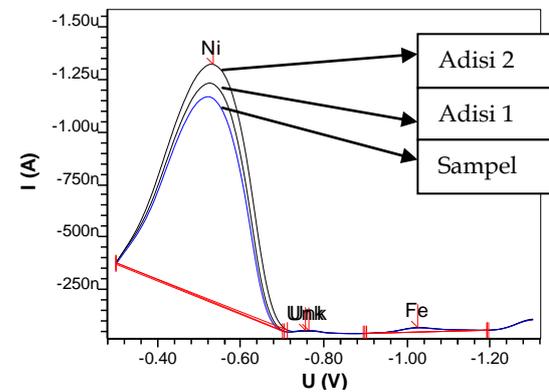
Pengulangan	Arus Puncak (nA) Ni(II)	Arus Puncak (nA) Fe(II)
1	13,78	117,26
2	13,35	119,34
3	13,33	119,75
4	13,04	120,03
5	12,49	120,55
6	11,58	119,05
7	11,05	121,49
8	10,13	120,77
Rata-rata	12,34	119,78
Standar Deviasi	1,29	1,28
SDR	10,45%	1,06%

Pada Tabel 3, nilai rata-rata untuk logam Ni(II) dan Fe(II) masing-masing adalah 12,34 nA dan 119,78 nA. Standar Deviasi Relatif (SDR) dari masing-masing logam adalah 10,45% untuk Ni(II) dan 1,06% untuk Fe(II). Metoda yang digunakan dalam penelitian dapat dikatakan memiliki ketelitian yang cukup tinggi karena menurut metoda *Association of Official Analytical Chemist (AOAC)*, nilai SDR untuk konsentrasi larutan standar 10 µg/L adalah kecil dari 15%¹⁵.

Aplikasi pada sampel

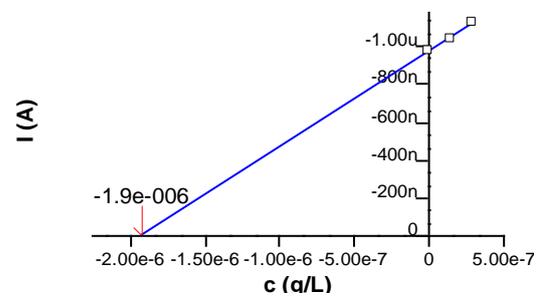
Metode ini diaplikasikan pada sampel untuk penentuan Ni(II) dan Fe(II) secara langsung dalam air kran, sungai Batu

Busuk, air laut Bungus Padang. Pengukuran sampel dilakukan dengan standar adisi dengan menggunakan kondisi optimum yang telah didapatkan sebelumnya.

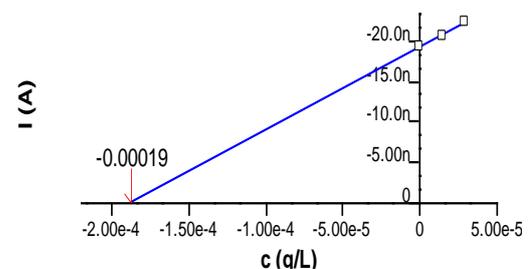


Gambar 5. Voltamogram dari sampel air sungai Batu Busuk dengan dua kali adisi standar Ni 10 µg/L dan Fe 1 mg/L dengan kondisi pengukuran: Kalkon 0,6 mM, pH 7, potensial akumulasi -0,2 V, waktu akumulasi 110 detik.

Ni
 c = 2.040 µg/L
 +/- 0.075 µg/L (3.67%)



Fe
 c = 198.842 µg/L
 +/- 6.471 µg/L (3.25%)



Gambar 6. Kurva konsentrasi Ni(II) dan Fe(II) yang terkandung dalam air sungai Batu Busuk Padang.

	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)	(%)
1	2,04	1,62	0,10	76,48
2	2,04	1,69	0,10	79,74
3	2,04	1,70	0,10	80,31
Jumlah				236,53
Rata-rata				78,84

Tabel 4. Data kandungan logam Ni(II) dan Fe(II) dalam sampel.

No.	Daerah Pengambilan Sampel	Ni(II) $\mu\text{g/L}$	Co(II) $\mu\text{g/L}$	Fe(II)	
				A	B
1.	Air kran	2,04	198,84		
2.	Air sungai Batu Busuk	1,72	264,71		
3.	Air laut Bungus Padang	19,35	441,31		

Tabel 4 adalah data kandungan logam Ni(II) dan Fe(II) di air kran, sungai Batu Busuk dan air laut Bungus Padang yang diperoleh dari kurva adisi pengukuran. Pada Tabel 4 dapat dilihat konsentrasi logam Ni(II) dan Fe(II) yang terkandung di air kran yaitu $2,04\mu\text{g/L}$ dan $198,84\mu\text{g/L}$. Konsentrasi logam Ni(II) dan Fe(II) yang terkandung di air sungai Batu Busuk padang yaitu $1,72\mu\text{g/L}$ untuk Ni(II) dan $264,71\mu\text{g/L}$ untuk Fe(II). Konsentrasi logam Ni(II) dan Fe(II) yang terkandung di air laut Bungus padang yaitu $19,35\mu\text{g/L}$ untuk Ni(II) dan $441,31\mu\text{g/L}$ untuk Fe(II).

Penentuan Perolehan Kembali

Penentuan nilai perolehan kembali bertujuan untuk melihat ketepatan dari suatu metoda. Perolehan kembali ini ditentukan dengan cara menambahkan larutan standar dengan konsentrasi tertentu ke dalam larutan sampel yang telah diketahui konsentrasinya dengan metoda standar adisi. Berikut adalah data perolehan kembali yang diperoleh dengan menambahkan 1 mL larutan standar $10\mu\text{g/L}$ Ni(II) dan 1 mg/L Fe(II) ke dalam 100 mL sampel air kran.

Tabel 5. Data perolehan kembali Ni(II) dan Fe(II) dengan Metoda AdSV

No	Ni(II)			Recovery
	A	B	C	

No	Fe(II)			Recovery (%)
	A ($\mu\text{g/L}$)	B ($\mu\text{g/L}$)	C ($\mu\text{g/L}$)	
1	198,87	204,19	9,90	98,75
2	198,87	208,99	9,90	101,07
3	198,87	208,66	9,90	100,91
Jumlah				300,73
Rata-rata				100,24

A : Konsentrasi sampel

B : Konsentrasi sampel yang diperoleh

C : Konsentrasi sampel yang ditambahkan

Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai perolehan kembali dengan metoda stripping voltametri adsorptif dari Ni(II) adalah 78,84% dan Fe(II) adalah 100,24%. Nilai perolehan kembali dari Ni(II) dan Fe(II) dengan metoda stripping voltametri adsorptif tersebut memiliki ketepatan dan ketelitian yang bagus karena masih berada dalam rentang standar perolehan kembali *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC) yaitu 75%-120% untuk larutan standar 1 mg/L ¹⁵.

IV. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan pengukuran kondisi optimum dari beberapa parameter yaitu: potensial akumulasi $-0,2\text{ V}$, waktu akumulasi 110 s, konsentrasi kalkon $0,6\text{ mM}$, dan pH larutan 7. Hasil pengukuran standar deviasi relatif yang didapat dengan 8 kali pengulangan untuk logam Ni(II) dan Fe(II) yaitu 10,45% dan 1,06%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa metoda AdSV secara simultan ini memiliki ketelitian yang bagus.

Metoda ini diaplikasikan secara langsung pada sampel air kran dan air sungai Batu Busuk, Air laut Bungus Padang. Konsentrasi sampel air kran yaitu 2,04 $\mu\text{g/L}$ untuk Ni(II) dan 198,84 $\mu\text{g/L}$ untuk Fe(II), konsentrasi air sungai Batu Busuk Padang yaitu 01,72 $\mu\text{g/L}$ untuk Ni(II) dan 264,71 $\mu\text{g/L}$ untuk Fe(II), konsentrasi air laut Bungus Padang yaitu 19,35 $\mu\text{g/L}$ untuk Ni(II) dan 441,31 $\mu\text{g/L}$ untuk Fe(II) Pada penelitian ini juga ditentukan nilai perolehan kembali yang bertujuan untuk melihat ketepatan dari metoda AdSV ini. Nilai perolehan kembali yang telah didapat untuk logam Ni(II) dan Fe(II) yaitu 78,84% dan 100,24%.

V. Ucapan terima kasih

Terkait dengan selesainya penelitian ini penulis mengucapkan terima kasih kepada analis laboratorium analisis terapan.

Referensi

1. Agnesa, A. **2010**, Mekanisme Toksisitas Logam Seng (Zn). *Kementrian Pendidikan Nasional, Universitas Jendral Soedirman*.
2. Puspa, D. **2005**, Analisis Kandungan Logam Berat Cd, Cr, Pb, dan Fe dalam Air Laut Sekitar PT. Rimba Sunkyong Bungus Teluk Kabung Kota padang. *Skripsi Sarjana Kimia. Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang*.
3. Soledad, C., Susana, M., Jose, A. G., Jorge, S., Roberto, A. O., Luiz, D. M. **2003**, On-line preconcentration of cobalt in drinking water using a minicolumn packed with activated carbon coupled to electrothermal atomic absorption spectrometric determination, *Anal. Sci.*, 58, 2015-2021.
4. Ferreira, S.L.C., Brito, C.F., Dantas, A.F., Araujo, N.M.L., Costa, A.C.S. **2008**. ligndless cloud point extraction of Cr(III), Pb(II), Cu(II), Ni(II), Bi(II) and Cd(II) ions in environmental sample with tween 80 and flame atomic absorption spectrometric determination. *Talanta*, 77, 289-293.
5. Baralkiewicz, D., dan Siepak, J. **1999**, Chromium, Nickel and Cobalt in Environmental Sample and Existing legal norms, *Anal. Sci*, 8, 201-208.
6. Saryati dan Wardiyati, S. **2008**, Aplikasi voltametri untuk penentuan logam berat dalam bahan lingkungan. *Indo. J. Material sci*, 265-270.
7. Deswati., Suyani, H., dan Safni. **2012**, The Method of the development of analysis Cd, Cu, Pb and Zn in sea water by adsorptive stripping oltammetry (AdSV) in the presence of calcon as complexing agent, *Indo. J. Chem*, 12 (1) : 20-27.
8. Deswati., Suyani, H., Imelda., dan Yulia. **2009**, Studi optimasi penentuan Cr(VI) dalam air laut secara voltametri stripping adsorptif, *J. Ris. Kim*, 3 (1) : hal 22-30.
9. Deswati., Suyani, H., dan Hilfi, P.: Penentuan timbal dan tembaga dalam air laut dengan simultan dengan menggunakan kalkon sebagai pengomplek secara voltametri stripping adsorptif, *Proseding Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia*, 22 Oktober di Padang 2011.
10. Wang, J. **2000**, *Analytical Electrochemistry*, 2nd-ed, A John Willey and Sons, Inc., Publication, New York, pp. 81-84 and 108-109.
11. Amini. M.K and Kabiri. M. **2005**, Determination of trace amounts of nickel by differential pulse adsorptive cathodic stripping voltmmetry using calconcarboxylic acid as a chelating agent, *J. Iran. Chem Soc.*, 2 : 32-39.
12. Burgess, R. R., dan Deutscher, M. P. **2009**, *Methods in Enzymology Guide to protein Purificatio*, 2nd ed., Elsevier, , pp. 50-56
13. Jugade, J. dan Joshi, A.P. **2003**, Indian J.Chem. Section A: Inorganic, Bio-inorganic, Phys.theor. & anal. Chem., 42A, 94.
14. Day, R. A., Underwood, JR. dan A.L. **2002**, *Buku Teks Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi ke-6, Terjemahan L.Sopyan, PT. Gelora Aksara Pratama., hal. 199 - 202.
15. Anonim, *AOAC Guidelines for Single Laboratory*, ([Http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf](http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf)), 19/12/2002, diakses 28/04/2013.

ISOLASI DAN KARAKTERISASI TERPENOID DARI FRAKSI AKTIF TOKSISITAS DAUN SRIKAYA (*Annona squamosa* L.)

Ayu Muthia, Afrizal, dan Bustanul Arifin

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

e-mail: afrizalitam@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Terpenoid compound was isolated from custard apple (*Annona squamosa* L.) leaves by using maceration and fractionation methods. Powder of sample was macerated by methanol and fractionated by n-hexane and ethyl acetate solvents. Toxicity test by using brine shrimp method showed all fractions had toxicity activities. Isolation compound was resulted from n-hexane fraction as many as 0,432 g. The characterization result showed 142,7^o- 143,9^oC which had double bond (C=C) unconjugated and had hydroxyl group. Toxicity test from isolated compound showed LC₅₀ 6,792 µg/mL.

Keywords: *Annonasquamosa* L., Terpenoid, Brine Shrimp Test.

I. Pendahuluan

Sumber alam hayati telah banyak digunakan oleh manusia untuk memenuhi berbagai kebutuhan hidup seperti sandang, pangan, papan, energi, wangi-wangian, zat warna, pestisida, dan obat-obatan. Salah satu sumber alam hayati tersebut berasal dari tumbuh-tumbuhan¹. Semakin meningkatnya penggunaan obat-obatan tradisional sebagai alternatif penyembuhan, maka penelitian secara ilmiah mengenai komponen aktif yang terkandung dalam tumbuhan perlu ditingkatkan. Hingga saat ini semakin banyak penelitian yang menemukan senyawa kimia baru yang berasal dari tumbuhan serta manfaatnya terhadap pengobatan. Senyawa kimia tersebut sangat membantu dalam pengembangan obat-obatan dan penanggulangan penyakit.

Tanaman srikaya memiliki banyak kandungan senyawa yang cukup aktif sebagai obat-obatan alami. Bagian tanaman yang banyak yang dimanfaatkan adalah daun, buah, kulit batang, dan biji buah srikaya. Dari hasil penelitian telah ditemukan bahwa bagian-bagian tersebut bermanfaat sebagai antibakteri^{2,3}, insek-

tisida^{4,5}, antioksidan⁶, antimikroba^{7,8}, anti-diabetes^{9,10,11}, antimalaria¹², anti-konvulsan¹³, sitotoksik¹⁴, dan antitumor¹⁵.

Tumbuhan srikaya merupakan tumbuhan yang potensial untuk mengobati penyakit kanker. Informasi ini sangat menarik untuk ditindak lanjuti mengingat penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang dapat menyebabkan kematian dengan tingkat kematian tertinggi setelah penyakit jantung koroner. Biji buah srikaya mengandung senyawa yang aktif terhadap aktifitas antikanker¹⁴. Berdasarkan literatur diketahui bahwa daun srikaya mengandung fenolik, flavonoid, saponin, kumarin, steroid, terpenoid, dan alkaloid¹⁶. Salah satu yang banyak digunakan untuk menguji aktifitas terhadap sel kanker adalah uji toksisitas menggunakan metode brine shrimp.

II. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat distilasi, *Rotary Evaporator* Heidolph WB 2000, spektrofotometer UV-1700 Series, dan FTIR (*Fourier Transform Infrared*) Perkin Elmer 1600 series, *melting point apparatus*, wadah

pembiakan udang, aerator, pipet mikro 10-100 μ L, lampu UV $\lambda = 254$ dan 365 nm, pengangas listrik, oven, kertas saring, plat KLT (kromatografi lapis tipis), kolom kromatografi, aluminium foil, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan adalah metanol (Merck), etil asetat (Merck), n-heksana (Merck), kloroform (Brataco), besi(III) klorida (Merck), anhidrida asetat (Fisson), amonia (Merck), asam sulfat pekat (Merck) dan anhidrida asetat (Merck), kristal iod (Merck) dan silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), telur udang *Artemia salina* diperoleh dari Farmasi Unand, dan akuades.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Ekstraksi

Sebanyak 1500 g serbuk daun srikaya dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 2 hari dan diulangi sebanyak tiga kali pada suhu kamar. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat ditambahkan 100 mL akuades dan difraksinasi berturut-turut dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. Filtrat hasil fraksinasi dipekatkan hingga diperoleh ekstrak pekat air, n-heksana dan etil asetat.

2.2.2 Kromatografi

Sebanyak 20 g ekstrak pekat n-heksana dicampurkan dengan 20 g silika gel dan digerus hingga teradsorpsi merata, kemudian ditambahkan secara hati-hati ke dalam kromatografi kolom yang telah disiapkan sebelumnya. Selanjutnya dielusi dengan metode *step gradient polarity* atau peningkatan kepolaran dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Fraksi yang keluar ditampung menggunakan vial 100 mL dianalisis pola pemisahan nodanya dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola noda dan R_f yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih kecil. Fraksi dengan pola noda yang sederhana dimurnikan dengan melakukan fraksinasi. Pemurnian kristal dilakukan dengan cara dekantasi menggunakan

pelarut n-heksana. Bagian yang tidak larut berupa padatan putih berbentuk jarum dan bagian yang larut dengan pelarut n-heksana berwarna hijau.

2.2.3 Karakterisasi

Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan pereaksi *Lieberman Burchard*, pengukuran titik leleh dan spektroskopi UV dan IR.

2.2.4 Pengujian Toksisitas Fraksi dan Senyawa Hasil Isolasi

Pengujian toksisitas dilakukan dengan melarutkan 4 mg sampel dalam 4 mL metanol sebagai larutan induk. Dari larutan induk dibuat variasi konsentrasi dengan 3 kali pengulangan dan pelarut diuapkan. Variasi konsentrasi yang digunakan terdapat pada Tabel 1. Setelah seluruh pelarut menguap, ekstrak pekat dilarutkan kembali dengan 50 μ L DMSO dan 2 mL akuades. *Artemia salina* dimasukkan sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing vial kemudian ditam-bahkan akudes hingga 5 mL. nilai LC₅₀ diukur menggunakan metode probit.

Tabel 1. Variasi konsentrasi pengujian toksisitas.

Fraksi	Variasi Konsentrasi (μ g/mL)
n-heksana	1, 2, dan 5
Etil asetat	0.5, 1, dan 2
Air	2, 5, 10, dan 15
Senyawa hasil isolasi	2, 5, 10, dan 15

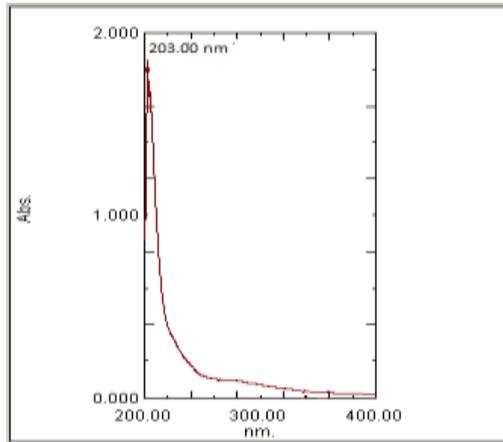
III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa hasil isolasi diperoleh dari fraksi IV (gabungan vial 5 dan 6. Sebanyak 432 mg padatan putih diperoleh dan diuji kemurnian menggunakan plat kromatografi lapis tipis dan diperoleh satu noda berwarna merah dengan penambahan pereaksi *Lieberman-Burchard* yang menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan terpenoid.

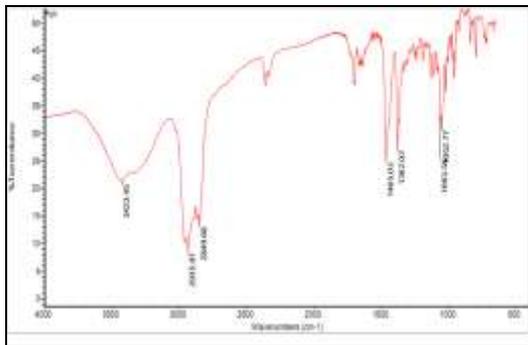
Pengukuran titik leleh menunjukkan angka 142,7-143,9°C. Senyawa hasil isolasi

menunjukkan adanya serapan pada daerah panjang gelombang maksimum 203,00 nm. Hal ini menunjukkan adanya transisi dari π ke π^* yang mengindikasikan adanya ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi. Hasil pengukuran spektroskopi UV dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil spektroskopi UV

Hasil pengukuran spektroskopi IR dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil spektroskopi IR

Gambar 2 memperlihatkan beberapa pita serapan yaitu pita serapan -OH bebas pada vibrasi regangan didaerah $3423,45\text{ cm}^{-1}$ yang didukung oleh adanya -C-O-stretching pada daerah $1063,55\text{ cm}^{-1}$ dan $1052,77\text{ cm}^{-1}$. Pada angka gelombang $2935,07\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya puncak -C-H alifatis sp^3 sedangkan $2849,68\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya puncak -CH₂ bending. Geminal dimetil yang merupakan serapan khas senyawa golongan terpenoid ditunjukkan pada daerah $1465,03\text{ cm}^{-1}$ dan $1382,02\text{ cm}^{-1}$.

3.2 Pengujian Toksisitas Fraksi dan Senyawa Hasil Isolasi

Nilai LC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi dengan log konsentrasi (x) vs nilai probit (y). Hasil pengujian toksisitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji toksisitas fraksi dan senyawa hasil isolasi.

No.	Sampel Uji	LC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1.	Air	20,3634
2.	n-heksana	0,7440
3.	Etil asetat	0,0863
4.	Senyawa hasil isolasi	6,792

Toksisitas suatu ekstrak tumbuhan terhadap larva udang dapat ditentukan dari nilai LC₅₀-nya. Apabila harga LC₅₀ < 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, maka dikatakan aktif. Dari hasil perhitungan LC₅₀ ketiga fraksi disimpulkan bahwa ketiga fraksi dan senyawa hasil isolasi memiliki aktifitas toksisitas yang sangat tinggi karena memiliki LC₅₀ < 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

IV. Kesimpulan

Senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan terpenoid dengan titik leleh $142,7\text{-}143,9^\circ\text{C}$ yang diperoleh dari fraksi n-heksana. Senyawa ini memiliki gugus -OH dan memiliki ikatan C=C tidak berkonjugasi yang ditunjukkan oleh serapan pada 203 nm. Hasil uji brine shrimp menunjukkan aktif toksisitas dengan LC₅₀ 6,792 $\mu\text{g}/\text{L}$.

V. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam yang selalu memberi dukungan selama penelitian.

Referensi

1. Achmad, S. A., **2006**, Hakekat Perkembangan Kimia Organik Bahan Alam dari Tradisional ke Moderen dan Contoh Terkait dengan Tumbuhan Lauraceae, Moraceae dan Dipterocarpaceae Indonesia, *Akta Kimindo*, 1(2): 55-66.
2. Kachhawa, J. B. S., Sharma, N., Tyagi, S., and Sharma, K. K., **2012**, Screening of Stem Bark Methanol Extract of *Annona squamosa* for Antibacterial Activity, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 4(1): 48-50.
3. Yusha'u, M., Taura, D. W., Bello, B., and Abdullahi, N., **2011**, Screening of *Annona squamosa* extracts for antibacterial activity against some respiratory tract isolates, *International Research of Pharmacy and Pharmacology*, 1(9): 237-241.
4. Syafwan, A., Arie W., M., dan Retno, H., **2012**, Pengaruh Pemberian Beberapa Konsentrasi Hasil Maserasi Daun Srikaya (*Annona Squamosa* L) Sebagai Bioinsektisida Terhadap Kematian Nyamuk *Aedes Aegypti* L Umur 2-5 Hari, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 1(1): 1-x.
5. Ashok K., J., Rekha, T., Shyamala Devi, S., Kannan, M., Jaswanth, A., and Gopal, V., **2010**, Insecticidal Activity of Ethanolic Extract of Leaves of *Annona squamosa*, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(5): 177-180.
6. Chandrashekar, C., and Kulkarni, V. R., **2011**, Isolation, Characterizations and Free radical scavenging activity of *Annona squamosa* leaf, *Journal of Pharmacy Research*, 4(3): 610-611.
7. Chandrashekar, C., and Kulkarni, V. R., **2011**, Isolation, characterization and Antimicrobial activity of *Annona squamosa* leaf, *Journal of Pharmacy Research*, 4(6):1831-1832.
8. Jeyavalli, A., Nepolean, R., Chandramohan, K., Selvakumar, N., and Nithya, G., **2012**, In Vitro Anti-microbial Activity on Leaf Extracts of *Annona squamosa* Linn., *International Journal of Pharmacy and Industrial Research*, 2(3): 265-266.
9. Ravinder, S., Devender Rao, K., Shashidher, B., Jayaprakashreddy, G., and Ajay, D., **2011**, Evaluation of Antidiabetic Activity of *Annona Squamosa* Linn Seed in Alloxan - Induced Diabetic Rats, *International Journal of Preclinical Research*, 2(2): 100-106.
10. Pornrut, R., Suphaket, S., Amornnat, T., and Kornkanok, I. S. S., **2009**, Anti-hyperglycemic and histological effects on the pancreas of the aqueous leaves extract of *Annona squamosa* L. in normal and diabetic rats, *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 31 (1):73-78.
11. Manjari, M., Vijay, J., and Anita S., **2010**, Antidiabetic and Cytoprotective Effect of *Annona squamosa* Leaves on Diabetic Wistar Albino Rats, *Pharmacology-online*, 2: 908-913.
12. Tylor, J., Arnold, W., Thomas, J. and Saleh, M. M., **2011**, Antimalarial alkaloids isolated from *Annona squamosa*, *Phytopharmacology*, 1(3): 49-53.
13. Mayur, P., Komal, S., and Paras, M., **2011**, Anticonvulsant Effect of *Annona squamosa* Linn. Leaves in Mice, *Pharmacologyonline*, 2: 44-52.
14. Yong, C., Jian-wei, C., and Xiang, L., **2011**, Cytotoxic Bistetrahydrofuran Annonaceous Acetogenins from the Seeds of *Annona squamosa*, *Journal of Natural Product*, 74: 2477-2481.
15. Pardhasaradhi, Madhurima, R., Mubarak A., A., Leela K., A., and Ashor, K., **2004**, Antitumor activity of *Annona squamosa* seed extract is through generation of free radicals and induction of apoptosis, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 41: 167-172.
16. Mulyani, M., Arifin, B., dan Nurdin, H., **2013**, Uji Antioksidan dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Daun Srikaya (*Annona squamosa* L), *Jurnal Kimia Unand*, 2(1): 6-12.

**PEMANFAATAN EKSTRAK ETANOL KULIT JENGKOL
(*Pithecellobium jiringa*) SEBAGAI INHIBITOR KOROSI BAJA St.37
DALAM MEDIUM ASAM KLORIDA**

Siska Rozi, Emriadi, dan Yeni Stiadi

Laboratorium Elektrokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: emriadi_62@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Corrosion inhibition of steel St.37 in hydrochloric acid solution using ethanol extract of *Pithecellobium jiringa* fruit rind was studied by weight loss, polarization potentiodynamic and photo optical methods in presence of ethanol extract of *Pithecellobium jiringa* fruit rind. From weight loss data it was observed that the corrosion rate decreases with the increases in the concentration of the ethanol extract of *Pithecellobium jiringa* fruit rind. Efficiency inhibition increases with the increases in the concentration of the ethanol extract of *Pithecellobium jiringa* fruit rind in HCl solution. Maximum inhibition efficiency was found (88,23%) in 1,0 N HCl acid with 0,2% ethanol extract of *Pithecellobium jiringa* fruit rind. Polarization potentiodynamic was observed that type of inhibitor is anodic. Photooptic show that surface morphology immersed in solution without and presence of ethanol extract *Pithecellobium jiringa* fruit rind with concentration 0,01% is different.

Keywords : Corrosion, Corrosion inhibitor, Steel St.37, *Pithecellobium jiringa*, weight loss, potentiodynamic, and Hydrochloric acid.

I. Pendahuluan

Baja Karbon rendah banyak digunakan dalam industri karena biayanya yang rendah dan mudah didapatkan. Larutan asam banyak digunakan dalam laboratorium kimia dan dalam beberapa proses industri, seperti dalam proses *pickling*, *cleaning*, dan *descaling*. Asam klorida menyerang baja karbon rendah dengan agresif yang menyebabkan kerusakan material sehingga terjadilah penurunan umur pemakaian logam. Peristiwa inilah yang secara umum dikenal dengan korosi.^{1,2,3}

Korosi baja karbon rendah merupakan masalah akademik dan industri dasar yang telah menerima cukup banyak perhatian. Korosi menimbulkan kerugian yang besar

secara langsung dan tidak langsung. Masalah ekonomi menjadi masalah utama untuk kontrol korosi. Sebagai contoh, di Amerika Serikat biaya langsung untuk korosi baja dianggarkan sekitar 276 milyar dollar dari anggaran dasar tahunan. Nilai ini lebih besar dari jumlah kerugian yang ditimbulkan akibat bencana alam (17 milyar dollar pertahun).^{4,5,6,7}

Penggunaan inhibitor adalah salah satu pilihan terbaik untuk melindungi logam terhadap korosi. Beberapa inhibitor yang digunakan salah satunya disintesis dari bahan mentah yang harganya murah atau dipilih dari senyawa yang memiliki atom hetero pada gugus aromatik atau rantai karbon panjang. Namun, sebagian besar inhibitor tersebut bersifat racun. Hal ini

telah mendorong beberapa peneliti mencari inhibitor korosi yang ramah lingkungan. Inhibitor ramah lingkungan adalah inhibitor yang dapat mengalami biodegradasi dan tidak mengandung logam berat atau senyawa beracun lainnya.⁸

Penggunaan bahan alami untuk menghambat korosi logam dalam lingkungan asam dan basa seperti yang telah dilaporkan oleh beberapa kelompok penelitian seperti penggunaan ekstrak bawang putih, ekstrak kulit buah pisang, dan ekstrak daun nenas memberikan hasil yang memuaskan.^{6,7,9,10} Dalam penelitian ini telah dipelajari apakah ekstrak dari kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) juga dapat berperan sebagai inhibitor korosi yang ramah lingkungan.

Ekstrak etanol kulit jengkol mengandung senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid dan alkaloid. Senyawa ini mengandung gugus OH sehingga dapat menyumbangkan pasangan elektron bebas yang berpotensi sebagai inhibitor korosi. Penggunaan ekstrak etanol kulit jengkol sebagai inhibitor korosi belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, melalui penelitian ini penggunaan ekstrak etanol kulit jengkol diharapkan dapat menjadi inhibitor korosi yang ramah lingkungan, di samping itu agar dapat meningkatkan nilai ekonomis dari kulit jengkol yang biasanya hanya terbuang sebagai limbah dan dapat digunakan secara luas.^{11,12}

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, potensiostat EDAQ, carton stereo trinocular foto optic, rotary evaporator, termometer, alat-alat gelas, amplas besi, brush dan oven.

Bahan yang digunakan adalah baja St.37, kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*), aseton (Merck), aquabides, HCl (Merck), etanol teknis, FeCl₃ (Merck), metanol teknis, kloroform (Merck), serbuk Mg (Merck), H₂SO₄ (Merck), dan amoniak (Merck).

2.2. Prosedur penelitian

A. Pengerjaan awal spesimen baja

Baja berbentuk batangan dipotong dengan ukuran diameter \pm 2,5 cm dan ketebalan \pm 0,5 cm. Kemudian dibersihkan dan dihaluskan permukaannya dengan menggunakan amplas besi dan dibilas dengan aquabides. Baja direndam dalam aseton untuk menghilangkan lemak yang mungkin menempel pada spesimen. Selanjutnya baja dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C. Setelah kering, ukur diameter dan ketebalan baja, lalu baja ditimbang dan hasil penimbangan dinyatakan sebagai berat awal.

B. Pembuatan ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*)

Kulit jengkol dikumpulkan dari pasar tradisional Batusangkar, Kabupaten Tanah Datar. Kulit jengkol segar dikering-anginkan sampai kering. Kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) kering dihaluskan dengan mesin gerinda lalu ditimbang sebanyak 500 g. Sampel yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam gelas kaca dan direndam dengan etanol 95 %. Campuran etanol dan kulit jengkol kering dimaserasi selama 3 hari. Ekstrak yang didapat disaring dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C. Ekstrak etanol kulit jengkol hasil rotary dikeringkan lagi dalam beaker gelas. Setelah kering ekstrak pekat yang didapat diencerkan menjadi konsentrasi 10 % (larutan induk). Dari larutan induk inilah dibuat larutan inhibitor berbagai variasi konsentrasi. Ekstrak pekat kulit jengkol diuji kualitatif dengan reagen spesifik senyawa-senyawa metabolit sekunder.

C. Uji kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol kulit jengkol

Ekstrak etanol kulit jengkol yang didapatkan, diambil sebanyak 5 mL kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan metanol dan panaskan. Hasilnya dicampurkan dengan kloroform, diaduk rata dan dibiarkan terpisah. Lapisan atas diambil dan dibagi menjadi 3 bagian untuk uji flavonoid, fenolik dan saponin. Lapisan bawah dibagi menjadi 3 bagian untuk uji

steroid, terpenoid dan sebagai pembanding. Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan HCl pekat dan serbuk Mg dan terjadi perubahan warna menjadi orange. Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan FeCl_3 , larutan berubah warna menjadi biru kehitaman. Uji saponin dilakukan dengan menambahkan HCl pekat, tidak menghasilkan busa. Uji steroid dengan menambahkan H_2SO_4 pekat dan anhidrida asetat menghasilkan cincin warna hijau sedangkan uji terpenoid dengan menambahkan H_2SO_4 pekat menghasilkan cincin warna merah.

Untuk uji Alkaloid, ekstrak diambil sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan dengan kloroform + amoniak (1 : 1). Campuran disaring dengan kapas dan diambil larutannya dan kemudian ditambahkan H_2SO_4 . Lapisan atas (lapisan asam) diambil dan ditambahkan pereaksi Mayer. Dengan adanya penambahan reagen ini membentuk endapan berwarna putih.

D. Pembuatan medium korosif HCl

Sebanyak 103,62 mL HCl p.a 37 % digunakan untuk membuat larutan induk HCl 5 N dalam labu ukur 250 mL. Larutan induk HCl 5 N inilah yang digunakan untuk membuat HCl dengan variasi konsentrasi 0,5 N; 1,0 N; 1,5 N; dan 2,0 N dan diencerkan dengan aquabides dalam labu ukur 50 mL.

E. Pembuatan larutan medium korosif dengan adanya penambahan ekstrak etanol kulit jengkol

Ekstrak pekat kulit jengkol yang telah didapatkan selanjutnya divariasikan konsentrasinya, yaitu 0,025 %; 0,05 %; 0,1 %; dan 0,2 % dari konsentrasi 10 % dan variasi konsentrasi tersebut masing-masing dicampur dengan larutan HCl konsentrasi 0 N; 0,5 N; 1,0 N; 1,5 N; dan 2,0 N. Selanjutnya diencerkan dengan aquabides dalam labu ukur 50 mL.

F. Analisis kehilangan berat

Sebanyak 35 keping baja yang telah dilakukan tahap pengerjaan awal, direndam dalam 50 mL larutan medium

korosif dengan adanya variasi konsentrasi HCl 0 N; 0,5 N; 1,0 N; 1,5 N; dan 2,0 N, dan variasi lama waktu perendaman (1, 2, 3, 4, 6, 8, dan 10 hari). Setelah didapatkan kondisi optimum dari lamanya waktu perendaman, maka dilakukan pula perendaman baja dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol dengan variasi konsentrasi 0,025 %; 0,05 %; 0,1 %; dan 0,2 % berdasarkan waktu optimum yang didapatkan. Kemudian baja yang telah direndam dibersihkan, dicuci dan dikeringkan dalam oven suhu 60°C. Setelah kering, baja ditimbang dan hasil penimbangan dinyatakan sebagai berat akhir (m_2).

G. Penentuan energi aktivasi

Baja direndam pada kondisi optimum dari variasi konsentrasi medium dengan adanya penambahan inhibitor (0,1 % ekstrak kulit jengkol) dan tanpa adanya penambahan inhibitor. Kemudian dilakukan variasi suhu, yaitu 30°C, 40°C, 50°C dan 60°C dengan variasi waktu selama 7 jam. Setelah itu baja dibersihkan dan dikeringkan, kemudian baja ditimbang dan hasil penimbangan dinyatakan sebagai berat akhir (m_2).

H. Pengukuran polarisasi potensiodinamik

Elektroda yang digunakan yaitu elektroda Pt sebagai elektroda pembantu, elektroda Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding dan baja sebagai elektroda kerja. Baja yang digunakan berbentuk batangan yang dilapisi dengan resin dengan jari-jari 0,078 cm. Pengukuran polarisasi potensiodinamik dilakukan dalam medium HCl 1,0 N yang mengandung konsentrasi yang berbeda dari inhibitor 0,025 %; 0,05 %; 0,1 %; dan 0,2 %. Ketiga elektroda dicelupkan ke dalam bejana berisi medium korosif HCl tanpa dan dengan adanya perbedaan konsentrasi inhibitor. Kemudian dihubungkan dengan potensiostat dan diatur potensial sehingga diperoleh kurva hubungan antara potensial (E) Vs arus (I).

I. Persiapan baja untuk analisis foto optik

Baja direndam dalam HCl 1,0 N tanpa dan dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol 0,1 % selama 3 hari. Kemudian

dibersihkan dan dikeringkan. Baja hasil perendaman difoto dengan *Carton Stereo Trinocular Foto Optic*, sebagai pembanding, baja tanpa perlakuan juga difoto.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil ekstraksi kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) dengan pelarut etanol

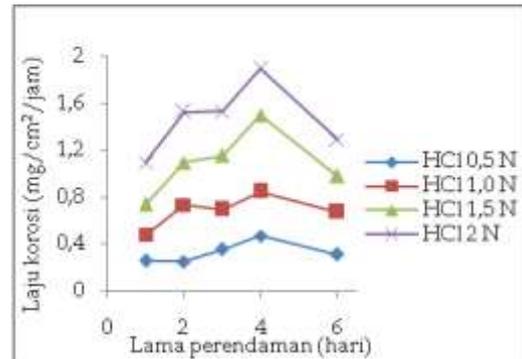
Total ekstrak etanol kering kulit jengkol yang didapat adalah 22,3462 g. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, ekstrak etanol kulit jengkol (+) terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, steroid dan (-) saponin. Senyawa metabolit sekunder inilah yang diharapkan dapat berperan sebagai inhibitor korosi baja St.37 dalam medium HCl karena mengandung atom N dan O yang memiliki pasangan elektron bebas yang dapat teradsorpsi di permukaan baja. Hasil yang didapatkan ini sesuai dengan yang telah dilaporkan bahwa ekstrak etanol kulit jengkol mengandung senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid dan alkaloid.¹¹

3.2 Pengaruh konsentrasi HCl (N) dan lama perendaman (hari) terhadap laju korosi ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{jam}$) dengan variasi lama perendaman.

Nilai laju korosi pada baja St.37 diperoleh dari data pengurangan berat dan diolah sesuai dengan persamaan :³

$$v = \frac{m_1 - m_2}{A \times t}$$

- v = Laju korosi ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{jam}$)
- m_1 = Berat awal baja (mg)
- m_2 = Berat akhir baja (mg)
- A = Luas permukaan baja (cm^2)
- T = Waktu perendaman baja (hari)

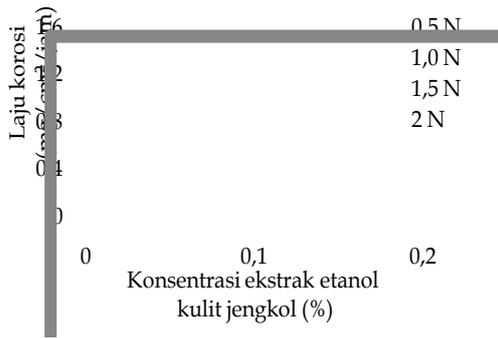


Gambar 1. Pengaruh lama perendaman (hari) terhadap laju korosi baja ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{jam}$) dalam larutan HCl dengan variasi konsentrasi 0,5 N; 1,0 N; 1,5 N dan 2 N.

Gambar 1. memperlihatkan pengaruh waktu perendaman terhadap laju korosi baja St.37. Semakin lama perendaman baja dalam medium korosif maka semakin meningkat pula nilai laju korosinya dan dengan meningkatnya konsentrasi medium korosif yang digunakan maka nilai laju korosi dari baja yang dihasilkan juga semakin meningkat. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya jumlah ion H^+ dan ion Cl^- dalam larutan yang mendegradasi baja tersebut. Akibatnya, akan semakin banyak permukaan baja yang terkorosi. Peningkatan konsentrasi HCl menyebabkan semakin banyaknya atom Fe dari baja yang terlepas sehingga laju korosi dari baja akan semakin besar.^{5,13}

Akan tetapi, setelah hari ke empat nilai laju korosi baja cenderung menurun. Hal ini disebabkan karena terbentuknya lapisan pasif yang relatif lebih banyak. Lapisan pasif yang terbentuk pada permukaan baja ini menghalangi masuknya ion-ion agresif ke permukaan baja.

3.2. Pengaruh penambahan ekstrak etanol kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) (%) terhadap laju korosi ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{jam}$)



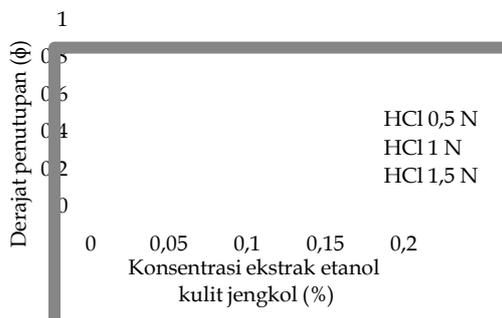
Gambar 2. Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kulit jengkol (%) terhadap laju korosi baja (mg/cm²/jam) yang direndam selama 3 hari dalam larutan HCl dengan variasi konsentrasi 0,5 N ; 1,0 N; 1,2 N dan 2 N.

Gambar 2. memberikan informasi bahwa nilai laju korosi baja St.37 menurun dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kulit jengkol yang digunakan. Hal ini disebabkan oleh adanya adsorpsi senyawa dari ekstrak kulit jengkol pada permukaan baja yang mampu menghalangi serangan dari ion-ion H⁺ dan Cl⁻ yang ada dalam medium korosif.^{1,3,13}

Penentuan nilai derajat penutupan permukaan baja oleh ekstrak kulit jengkol dilakukan dengan menggunakan persamaan :³

$$\theta = \frac{V_{\text{tanpa inhibitor}} - V_{\text{inhibitor}}}{V_{\text{tanpa inhibitor}}}$$

θ = Derajat penutupan permukaan

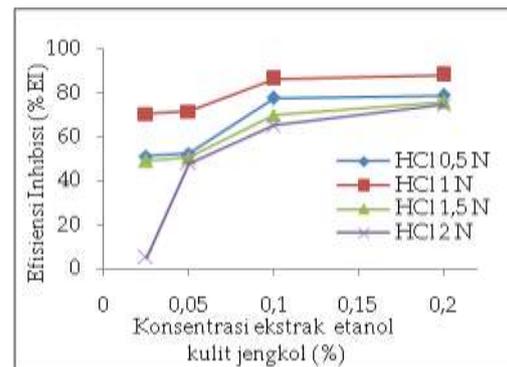


Gambar 3. Hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit jengkol (%) dengan derajat penutupan (ϕ) dalam larutan HCl dengan variasi konsentrasi 0,5 N; 1,0 N; 1,5 N dan 2 N.

Gambar 3. menunjukkan dengan bertambahnya konsentrasi inhibitor ekstrak kulit jengkol yang diberikan maka derajat penutupan permukaan baja semakin bertambah pula. Hal ini disebabkan permukaan baja hampir seluruhnya tertutupi oleh ekstrak kulit jengkol, sehingga serangan ion-ion H⁺ dan Cl⁻ yang ada dalam medium korosif terhalang untuk menyerang permukaan baja. nilai derajat penutupan permukaan baja terbesar terdapat pada konsentrasi medium korosif 1,0 N dengan konsentrasi ekstrak 0,2 %, yaitu sebesar 0,8823.^{6,10.}

Penentuan nilai efisiensi inhibisi dari inhibitor ekstrak kulit jengkol dilakukan dengan menggunakan persamaan :³

$$EI = \frac{V_{\text{tanpa inhibitor}} - V_{\text{inhibitor}}}{V_{\text{tanpa inhibitor}}} \times 100\%$$



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kulit jengkol (%) terhadap efisiensi inhibisi korosi baja (% EI) dalam larutan HCl dengan variasi konsentrasi HCl 0,5 N; 1,0 N; 1,5 N dan 2 N.

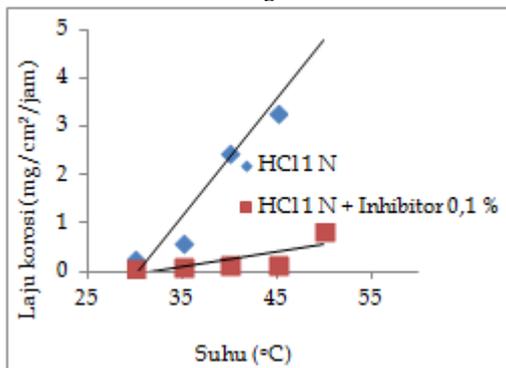
Dari gambar 4. terlihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi inhibitor yang digunakan, maka nilai efisiensi inhibisi semakin meningkat. Nilai efisiensi inhibisi korosi tertinggi diperoleh pada konsentrasi medium korosif HCl 1,0 N dengan konsentrasi ekstrak 0,2 % yang bernilai sebesar 88,2313 %.

Peningkatan nilai efisiensi dan penurunan laju korosi karena adanya penambahan inhibitor ekstrak kulit jengkol dengan berbagai variasi konsentrasi disebabkan

karena adanya penyerapan molekul ekstrak kulit jengkol pada permukaan baja yang mengakibatkan terbentuknya lapisan pelindung. Hal ini juga berhubungan dengan derajat penutupan baja. Sehingga terbentuk sebuah lapisan pelindung. Lapisan pelindung diperkirakan suatu senyawa kompleks besi dengan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit jengkol. Senyawa inilah yang memiliki pasangan elektron bebas yang bertindak sebagai ligan. Elektron bebas inilah yang akan disumbangkan untuk berikatan dengan atom Fe. Senyawa kompleks yang terbentuk inilah yang akan menghalangi serangan dari ion-ion H^+ dan Cl^- yang ada dalam medium korosif.^{6,12,14}

3.3. Pengaruh suhu ($^{\circ}C$) terhadap laju korosi ($mg/cm^2/jam$)

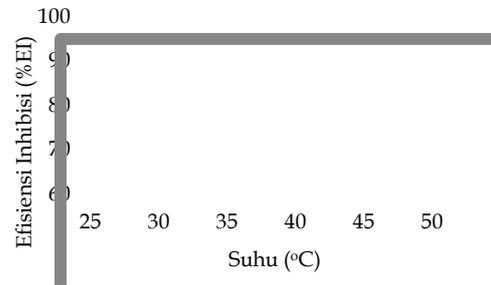
Gambar 5. menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu, maka laju korosi akan semakin meningkat. Hal ini disebabkan dengan meningkatnya suhu maka energi kinetik partikel juga semakin besar, sehingga laju korosi semakin meningkat.



Gambar 5. Pengaruh suhu ($^{\circ}C$) terhadap laju korosi ($mg/cm^2/jam$) dalam medium HCl 1,0 N tanpa adanya penambahan inhibitor dan dengan adanya penambahan inhibitor 0,1 % dengan lama perendaman 7 jam.

Pengaruh suhu terhadap penentuan efisiensi inhibisi korosi baja memperlihatkan laju oksidasi Fe pada permukaan baja. Oksidasi maksimum diperoleh pada suhu $45^{\circ}C$ yaitu sebesar 95,6145 %. Nilai laju korosi baja dalam medium korosif HCl 1,0 N tanpa dan dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol ini selanjutnya akan

digunakan untuk menentukan energi aktivasi.¹⁴

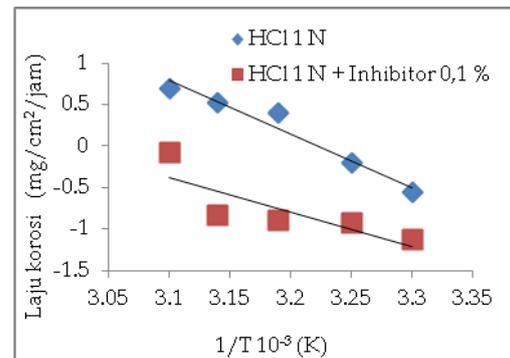


Gambar 6. Pengaruh suhu terhadap efisiensi inhibisi baja dalam medium HCl 1,0 N tanpa penambahan ekstrak dan dengan penambahan ekstrak kulit jengkol 0,1 %.

Nilai energi aktivasi dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan :¹⁵

$$\text{Log } V = \frac{-E_a}{2,303 RT} + A$$

Dengan V merupakan laju korosi, E_a adalah energi aktivasi dan R adalah konstanta gas ideal. Hubungan antara $\text{log } V$ dengan $1/T$ menghasilkan garis lurus dan nilai slope dari grafik tersebut merupakan nilai $E_a/2,303R$.



Gambar 7. Kurva Arrhenius $1/T (K)$ terhadap log CR tanpa penambahan inhibitor dan dengan adanya penambahan inhibitor 0,1 %.

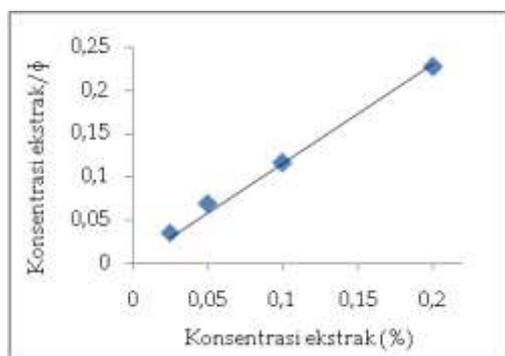
Berdasarkan persamaan linear dari grafik pada Gambar 7. tersebut, maka dapat diperoleh nilai energi aktivasi (E_a). Nilai energi aktivasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. memperlihatkan bahwa energi aktivasi lebih rendah dengan adanya inhibitor dibandingkan dengan tanpa adanya inhibitor. Hal ini menunjukkan bahwa sistem inhibisi mengindikasikan terjadinya mekanisme adsorpsi kimia.¹⁴

Tabel 1. Nilai energi aktivasi tanpa dan dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol.

No.	Medium	Energi Aktivasi (kJ/mol)
1.	HCl 1,0 N	122,1837
2.	HCl 1,0 N + 0,1 % inhibitor	81,1647

3.4. Isoterm adsorpsi



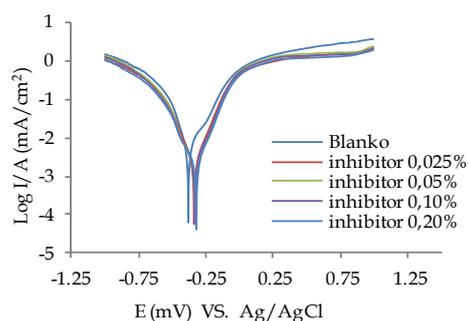
Gambar 8. Hubungan isoterm adsorpsi Langmuir untuk adsorpsi ekstrak kulit jengkol dalam medium HCl 1,0 N

Gambar 8. menunjukkan aluran nilai konsentrasi ekstrak kulit jengkol terhadap nilai konsentrasi ekstrak kulit jengkol / nilai derajat penutupan permukaan baja (Φ). Grafik yang diperoleh berupa garis lurus seperti Gambar 8. yang menunjukkan bahwa isoterm adsorpsi pada permukaan baja dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol mengikuti isoterm adsorpsi Langmuir. Isoterm adsorpsi Langmuir mengasumsikan bahwa adsorpsi ekstrak kulit jengkol pada permukaan baja membentuk lapisan monolayer. Akibatnya, interaksi permukaan baja dengan molekul lain berkurang.^{15,16}

3.5. Analisis Pengukuran Polarisasi Potensiodinamik

Gambar 9. memperlihatkan kurva polarisasi potensiodinamik tanpa dan dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol dalam medium asam klorida. Dari hasil pengukuran polarisasi potensiodinamik ini diperoleh kurva hubungan antara potensial (mV) dengan log arus (mA).

Kurva polarisasi potensiodinamik menunjukkan adanya interaksi antarmuka antara larutan dengan elektroda. Interaksi ini menimbulkan polarisasi dan arus tertentu. Kurva polarisasi diekstrapolasikan dengan metode Tafel untuk menentukan nilai arus korosi (I_{corr}), potensial korosi (E_{corr}) dan efisiensi inhibisi (% EI). Pada Tafel plot diatas terlihat bahwa inhibitor bersifat anodik karena pergeseran terjadi dari arah katodik kearah anodik. Data nilai analisis Tafel plot yang diperoleh terdapat pada Tabel 2.



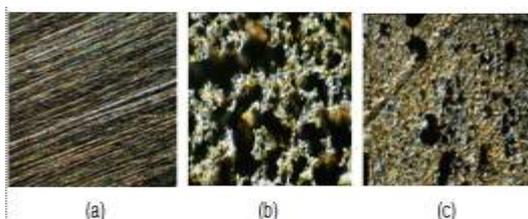
Gambar 9. Kurva polarisasi potensiodinamik tanpa penambahan ekstrak dan dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol dalam medium HCl 1,0 N

Tabel. 2 Nilai potensial dan arus korosi baja dari eksplorasi tafel plot tanpa dan dengan adanya penambahan ekstrak kulit jengkol pada medium HCl dengan luas permukaan elektroda kerja (baja) = 3,14 (0,078) cm² = 0,019 cm².

Konsentrasi ekstrak (%)	E korosi (mV)	I korosi (mA/cm ²)	EI %
0	-0.37	0,0079433	-
0,025	-0.33	0,0031623	60,18909018
0,05	-0.32	0,0021189	73,32468873
0,1	-0.31	0,0019953	74,88071708
0.2	-0.32	0,0015849	80,04733549

3.6. Analisis Foto Optik

Gambar 10 (a). merupakan foto permukaan baja tanpa perlakuan perendaman dengan medium korosif HCl, terlihat bahwa permukaan baja masih belum terkorosi karena belum terjadi interaksi dengan medium korosif. Hal ini dapat dilihat dari bentuk permukaan baja yang tidak berlubang, tidak berpori dan tidak retak.¹³



Gambar 10. Hasil foto optik permukaan baja dengan perbesaran 100x dimana (a). permukaan baja tanpa perlakuan, (b). Permukaan baja setelah perendam dalam larutan HCl 1,0 N selama 3 hari, dan (c). permukaan baja setelah perendaman dalam larutan HCl 1,0 N + ekstrak etanol kulit jengkol 0,1 % (v/v) selama 3 hari.

Gambar 10 (b). Merupakan foto permukaan baja yang telah direndam dengan HCl 1,0 N selama 3 hari, terlihat bahwa permukaan baja tersebut telah terkorosi yang ditandai dengan terdapatnya karat yang berwarna coklat kekuningan dan terjadi kerusakan pada permukaan baja yang berbentuk lobang-lobang besar. Hal ini disebabkan oleh adanya interaksi dari H⁺ dan Cl⁻ pada permukaan baja tersebut.¹³

Gambar 10 (c). Merupakan foto permukaan baja yang telah direndam dengan HCl 1,0 N dengan adanya penambahan ekstrak etanol kulit jengkol 0,1 %. Permukaan baja terlihat tidak mengalami kerusakan yang lebih bila dibandingkan dengan gambar 10 (b). Hal ini disebabkan karena inhibitor

(ekstrak etanol kulit jengkol) teradsorpsi pada permukaan baja dan membentuk lapisan pelindung, sehingga hanya sedikit baja yang mengalami korosi.¹³

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit jengkol (*Pithecelobium jiringa*) dapat digunakan sebagai inhibitor korosi baja dalam medium korosi HCl. Nilai laju korosi baja semakin menurun dan nilai efisiensi inhibisi korosi baja semakin meningkat dengan adanya ekstrak kulit jengkol (*Pithecelobium jiringa*). Nilai efisiensi inhibisi korosi baja St.37 tertinggi adalah 88,2313 %, Analisis permukaan baja memperlihatkan bahwa terjadinya perubahan morfologi baja sebelum perendaman, setelah perendaman dengan medium HCl dan setelah perendaman dengan penambahan ekstrak etanol kulit jengkol kedalam medium korosif HCl. Ekstrak etanol kulit jengkol dapat teradsorpsi pada permukaan baja, sehingga dapat melindungi baja dari serangan medium korosif.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Elektro/Fotokimia FMIPA Universitas Andalas yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

1. Kumpawat, N., Chatuendi, A., and Upadhyay, R.K., 2012, Corrosion Inhibition of Steel by Alkaloid Extract of *Ocimum santum* in HCl and HNO₃ Solution, *Research Journal of Chemical science*, 2 (5) : 51-56.
2. Praveen, B.M., and Venkatesha, T.V., 2009, Metol as Corrosion Inhibitor for Steel, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 4 : 267-275.
3. Hasan, S.K., and Edrah, S., 2011, Rosemary Extract as Eco Friendly Corrosion Inhibitor for Low Mild Steel in Acid Medium, *J. Ind. Res. Tech.*, 1 (2) : 110-113.
4. Vimala, J.R., Rose, A.L., and Raja, S., 2011, *Cassia auriculata* Extract as

- Corrosion Inhibitor fo Mild Steel in Acid Medium, *International Journal of ChemTech Research*, 3 (4) : 1791-1801.
5. Obi-Egbedi, N.O., Essien, K.E., Obot, I.B., and Ebenso, E.E., **2011**, 1,2-Diaminoanthraquinone as Corrosion Inhibitor for Mild Steel in Hidrochloric Acid: Weight loss and Quantum Chemical Study, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6: 913-930.
 6. Gunavathy, N., and Murugavel, S.C., **2012**, Corrosion Inhibition Studies of mild Steel in acid Medium Using *Musa acuminata* Fruit Peel Extract, *E-Journal of Chemistry*, 9 (1) : 487-495.
 7. Kesavan, D., Gopiraman, M., and Sulochana, N., **2012**, Green Inhibitor for Corrosion of Metals : A Review, *Chemical Science Review and Letters*, ISSN 2278-6783, 1 (1) : 1-8.
 8. Eddy, N.O., and Ebenso, E.E., **2008**, Adsorption and Inhibitive Properties of Ethanol Extracts of *Musa sapientum* Pells as a Green Corrosion Inhibitor for Mild Steel in H₂SO₄, *African Journal of pure and Applied Chemistry*, 2 (6) : 046-054.
 9. Rajam, K., Rajendran, S., Manivannan, M., and Saranya, R., **2012**, Corrosion Inhibition by *Allium sativum* (garlic) Extract, *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 2 (3) : 1223-1233.
 10. Ekanem, U.F., Umoren, S.A., Udousoro, I. I., and Udoh, A.P., **2010**, Inhibition of Mild Steel Corrosion in HCl Using Pineapple Leaves (*Ananas comosus* L.) Extract, *J. Mater. Sci.* 45 : 5558-5566.
 11. Muslim, N.S., Nassar, Z.D., Aisha, A.F.A., Shafei, A., Idris, N., Majid, A.M.S.A., and Ismail, Z., **2012**, Antiangiogenesis and Antioxidant Activity of ethanol Extracts of *Phithecellobium jiringa*, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12 (210) : 1-10.
 12. Erna, M., Emriadi, Alif, A., dan Arif, S., **2011**, Karboksil Kitosan sebagai Inhibitor Korosi pada Baja Lunak dam Media Air Gambut, *Jurnal matematika dan Sains*, 16 (2) : 106-110.
 13. Loto, C.A., Loto, R.T., and Popola, A.P.I., **2011**, Corrosion and Plants Extracts Inhibition of Mild Steel in HCl, *International Journal of Physical Sciences*, 6 (15) : 3616-3623.
 14. Mangai, S.A., and Ravi, S., **2013**, Comparative Corrosion Inhibition Effect of Imidazole Compounds and of *Trichodesma indicum* (Linn) R.Br. on C38 Steel in 1 M HCl Medium, *Journal of Chemistry*, 2013 : 1-4.
 15. Nwabanne, J.T., and Okafor, V.N., **2012**, Adsorption and Thermodynamics Study of The Inhibition of Corrosion of Mild Steel in H₂SO₄ Medium Using *Vernonia Amygdalina*, *Journal of Material and Materials Characterization and Engineering*, 11 : 885-889.
 16. Shah, A.M., Rahim, A.A., Hamid, S.A., and Yahya, S., **2013**, Green Inhibitor for Copper Corrosion by magrove Tannin, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 8 : 2140-2153.

VALIDASI METODA PENENTUAN ANTIOKSIDAN TOTAL (DIHITUNG SEBAGAI ASAM ASKORBAT) SECARA SPEKTROFOTOMETRI DENGAN MENGGUNAKAN OKSIDATOR FeCl_3 DAN PENGOMPLEK *Orto* - FENANTROLIN

Yuharmaleni Putri^a, Yefrida^b, Umiati Lukman^c

^{ab}Laboratorium Kimia Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA,

^cLaboratorium Kimia Terapan Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: yefrida23@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Ascorbic acid is a compound that has antioxidant properties. There are many methods to determine total antioxidant in natural samples. In this study, we validate the method to determine antioxidant content in natural samples. The method is using Fe^{+3} as oxidator to oxidize antioxidant and *o*-phenantrolin as a complex reagent. The formed complex compound was measured by using spectrophotometer. The parameter of validation that we got were correlation coefficient (r) = 0.9953; LoD = 1.14×10^{-5} M and LoQ = 7.59×10^{-6} M. While SDR and recovery for lime and orange were 4.96 %; 2.93 % and 100.37 %; 98.91 %, respectively. From this result, we conclude, that the method we validate can used to determine total antioxidant in natural samples.

Keywords : Total Antioxidant, Validation Method, Spectrophotometri

I. Pendahuluan

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Manfaat antioksidan bagi kesehatan dan kecantikan, misalnya untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain. Dalam produk pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya. Penggunaan sebagai obat makin berkembang seiring dengan makin bertambahnya pengetahuan tentang aktifitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker karena dapat

menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga radikal tersebut dapat diredam^{1,2, dan 3}.

Para ahli selalu berusaha mengembangkan metoda yang sederhana, praktis dan selektif untuk analisis kuantitatif baik yang berdasarkan sifat fisika maupun sifat kimia yang dimiliki senyawa tersebut. Pemilihan metode merupakan masalah yang terpenting di dalam setiap analisis, karena metode yang akan dipilih itu merupakan pencerminan dari beberapa faktor. Faktor – faktor tersebut antara lain: tujuan analisis, jenis bahan yang digunakan, jumlah bahan yang akan dianalisis, ketepatan dan ketelitian yang diinginkan, lamanya waktu yang diperlukan untuk analisis serta peralatan yang tersedia.

Selama ini pengujian antioksidan banyak menggunakan metode DPPH, CUPRAC dan FRAP. Pengujian tersebut dilakukan menggunakan metoda efek penangkapan radikal bebas yang prinsipnya adalah penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas. Penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas, akan menyebabkan terjadinya perubahan warna yang akan diukur menggunakan spektrofotometer. Metode FRAP sering digunakan karena memiliki berbagai macam pengomplek seperti 2,4,6 tripiridil-triazin, ferrozine, sianida dan *o*-fenantrolin. Penggunaan Fe^{+3} menggunakan pengomplek *o*-fenantrolin telah dilakukan hanya untuk pengukuran asam askorbat oleh efrizon pada tahun 1997. Karena asam askorbat merupakan salah satu bentuk antioksidan, oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan validasi metoda untuk penentuan antioksidan total⁴.

Antioksidan merupakan reduktor yang dapat mereduksi Fe^{+3} menjadi Fe^{+2} . Fe^{+2} yang tereduksi ini dikomplekkan dengan *orto*-fenantrolin. Pengompleksan besi dengan menggunakan *orto*-fenantrolin akan menghasilkan larutan yang berwarna merah jingga, karena terbentuknya kompleks $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{2+}$. Warna merah jingga dari kompleks yang dihasilkan ini stabil pada kisaran pH 2-9. Oleh karena itu penelitian dapat dilakukan pada range pH asam maupun basa. Kompleks $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{2+}$ ini akan setara dengan antioksidan yang terdapat pada sampel. Kompleks $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{2+}$ ini dapat dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis⁵.

Salah satu bentuk antioksidan adalah asam askorbat yang dapat larut dalam air. Asam askorbat banyak terdapat pada buah-buahan, tumbuh-tumbuhan dan tablet. Namun asam askorbat tidak dapat dihasilkan oleh tubuh manusia karena tidak memiliki enzim gulonolaktone oksidase. Asam askorbat berperan dalam pembentukan kolagen, melawan infeksi dan stress, membentuk dalam mekanisme

resprasi dan kerja hormon, pembentukan sel-sel tubuh dan untuk memelihara zat-zat pengikat sel.^{6 dan,7}

Oleh karena itu peneliti ingin menguji keakuratan metode ini untuk penentuan kandungan antioksidan total dengan menggunakan asam askorbat sebagai antioksidan standar. Parameter yang diuji antara lain linearitas, presisi, recoveri, LoD (Limit of Detection) serta LoQ (Limit of Quantification).

II. Metodologi Penelitian

2.1 Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan diantaranya besi (III) klorida heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6 H_2O$) p.a (Merck), asam askorbat ($C_6H_8O_6$) p.a (Merck), *orto*-fenantrolin monohidrat ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) p.a (Merck), asam asetat (CH_3COOH) 100 % (Merck), natrium asetat dihidrat ($CH_3COONa \cdot 2 H_2O$) p.a (Merck), akuabides, jeruk madu dan jeruk nipis.

Alat yang digunakan diantaranya spektrofotometer UV-Vis (T 70 UV/VIS Spectrofotometer), pH meter (inolab), neraca analitik, standar, klem, labu ukur, pipet gondok, buret, corong, batang pengaduk, gelas piala, gelas ukur, labu semprot, kaca arloji, pipet takar, pump pipet, pipet tetes, neraca teknis, corong, erlenmeyer, dan kertas saring.

2.2 Prosedur penelitian

a. Pengambilan sampel

Sampel yang akan dianalisis berupa jeruk madu dan jeruk nipis yang beredar di pasar.

b. Penentuan Kondisi Optimum pada Pengukuran Kompleks Fe^{2+} dengan *o*-fenantrolin

1. Penentuan Panjang gelombang Maksimum Pengukuran Kompleks Fe^{2+} dengan *o*-fenantrolin
Ke dalam labu ukur 25 mL dimasukkan 5 mL asam askorbat 0,0001 M; 1 mL $FeCl_3$ 0,0020 M; 5 mL buffer asetat pH 4; dan 1 mL *o*-fenantrolin 0,1% diencerkan hingga tanda batas dengan akuabides. Didiamkan selama 30 menit. Absorban diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm.

2. Pengaruh pH Larutan Terhadap Absorban Kompleks Fe^{2+} dengan *o*-fenantrolin

Dicampurkan larutan sesuai prosedur 1, tetapi pH larutan divariasikan dengan penambahan larutan buffer dengan variasi pH 3; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7 dan akuabides. Absorban diukur pada panjang gelombang maksimum.

3. Pengaruh Konsentrasi $FeCl_3$ Terhadap Serapan Fe^{2+} dengan *o*-fenantrolin

Dicampurkan larutan sesuai prosedur 1, tetapi tidak ada penambahan buffer dan konsentrasi $FeCl_3$ divariasikan yaitu 0,0005; 0,001; 0,0015; 0,002; 0,0025; 0,003; dan 0,0035 M. Absorban diukur pada panjang gelombang maksimum.

4. Pengaruh Waktu Terhadap Kestabilan Kompleks Fe^{2+} dengan *o*-fenantrolin.

Ke dalam labu ukur 25 mL dimasukkan 5 mL asam askorbat 0,0001 M; 1 mL $FeCl_3$ 0,0025 M; dan 1 mL *o*-fenantrolin 0,1% diencerkan hingga tanda batas dengan akuabides. Kemudian divariasikan waktu pengukuran setiap 5; 15; 30; dan 45 menit. Absorban diukur pada panjang gelombang maksimum.

d. Validasi Metoda

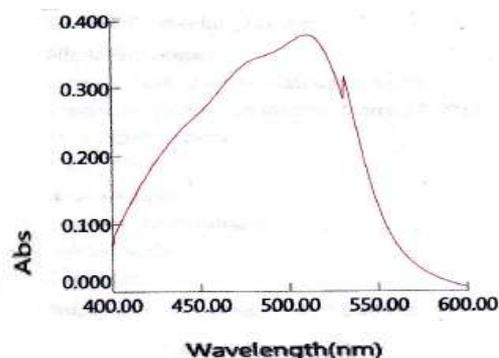
Pada validasi metoda ini, parameter yang diuji adalah linearitas, SDR, LoD, LoQ, dan rekoverti dimana prosedur penelitian dilakukan berdasarkan kondisi optimum yang didapatkan.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Penentuan Kondisi Optimum Pengukuran

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

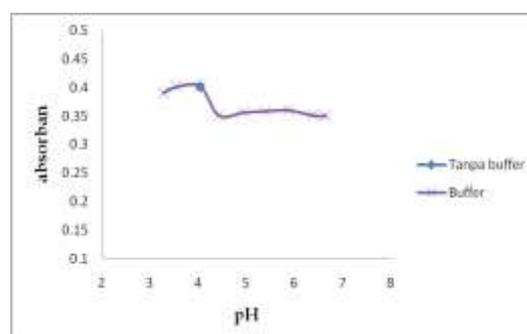
Antioksidan akan bereaksi dengan ion Fe^{+3} menghasilkan ion Fe^{+2} . Ion Fe^{+2} yang terbentuk dikomplekskan dengan *Orto*-fenantrolin menghasilkan senyawa kompleks $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{+2}$ yang berwarna merah-oranye dengan puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 511 nm.



Gambar 1. Spektrum absorpsi dari senyawa kompleks $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{+2}$ (dari JPEG)

b. Pengaruh pH Larutan

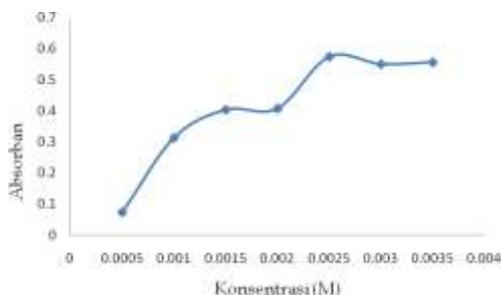
Ini merupakan hal yang paling penting dalam penentuan antioksidan, karena antioksidan melepaskan H^+ jika mengalami oksidasi dan sangat berpengaruh terhadap kestabilan kompleks. Menurut Vogel, Kompleks $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{+2}$ yang berwarna merah jingga ini stabil pada kisaran pH 2-9 dan optimum pada pH 3,9. Setelah dilakukan percobaan, ternyata hanya dengan menggunakan akuabides dimana pH larutannya adalah 4,04, nilai absorban yang dihasilkan hampir sama dengan penambahan pada larutan buffer pH 4. Dengan demikian dilakukan pengukuran kompleks tanpa ada penambahan larutan buffer, sehingga dapat mengurangi biaya penelitian.



Gambar 2. Pengaruh pH larutan terhadap absorbansi senyawa kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{+2}$ (dari Microsoft Excel)

c. Pengaruh Konsentrasi FeCl_3

Pengaruh dari konsentrasi FeCl_3 pada penentuan antioksidan ini diteliti dengan mengukur intensitas warna dari senyawa kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{+2}$. Mol FeCl_3 harus berlebih dari mol antioksidan. Hasil pengukuran konsentrasi Fe^{+3} terhadap absorbansi dapat dilihat pada Gambar 3.

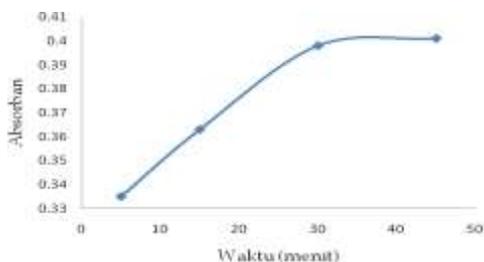


Gambar 3. Pengaruh konsentrasi Fe^{+3} (dari Microsoft Excel)

Dari gambar terlihat bahwa respon absorbansi meningkat dengan bertambahnya konsentrasi Fe^{+3} dan mencapai optimum pada konsentrasi 0,0025 M. Hal ini berarti konsentrasi Fe^{+3} 0,0025 M telah mengikuti persamaan reaksi stoikiometri, sedangkan penambahan Fe^{+3} dengan konsentrasi besar dari 0,0025 M, absorbansi terlihat agak mendatar. Berarti kelebihan Fe^{+3} tidak memberikan gangguan yang berarti dalam pengukuran.

d. Pengaruh Waktu Terhadap Kestabilan Kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{+2}$

Penentuan waktu kestabilan kompleks dalam metoda ini bertujuan untuk mengetahui selang waktu dimana warna kompleks yang terbentuk stabil dan baik digunakan untuk analisa. Hasil penentuan waktu kestabilan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh waktu kestabilan senyawa kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{+2}$ (dari Microsoft Excel)

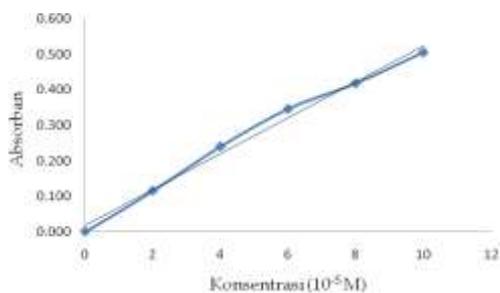
Dari gambar di atas terlihat bahwa respon meningkat dengan bertambahnya waktu dan stabil setelah waktu 30 menit, hal ini berarti bahwa pengukuran dapat dilakukan setelah waktu pembentukan warna kompleks selama 30 menit.

3.2 Validasi Metoda

Validasi metoda ini dilakukan untuk menguji dan membuktikan bahwa metoda ini ideal untuk penentuan antioksidan, karena metoda ini baru dikembangkan. Berikut parameter dari validasi metoda :

a. Linearitas

Linearitas dapat ditentukan melalui kurva kalibrasi standar. Kurva kalibrasi standar diperoleh dengan memplotkan hasil pengukuran absorbansi deretan larutan standar dengan berbagai konsentrasi asam askorbat (M). Larutan deret standar asam askorbat disiapkan dan dianalisis menggunakan kondisi optimum sesuai dengan kondisi optimum yang didapatkan.



Gambar 5. Kurva kalibrasi standar asam askorbat (dari Microsoft Excel)

Dari kurva kalibrasi standar asam askorbat, konsentrasi asam askorbat sebanding dengan absorbansi. Dari kurva kalibrasi standar didapatkan persamaan regresi : $Y = 0,0178 + 5057,14 X$ dan koefisien

korelasi (r) = 0,9953. Artinya kurva ini memiliki linearitas yang baik karena memiliki koefisien korelasi mendekati 1 sehingga dapat digunakan sebagai standar untuk penentuan kandungan antioksidan total. Hubungan liner yang ideal dicapai jika $r = -1$ atau $+1$, tergantung dengan arah garis.

b. Penentuan Batas Deteksi (LoD) dan batas kuantitasi (LoQ)

Penentuan batas deteksi (**LoD**) dan batas kuantitasi (**LoQ**) didasarkan pada persamaan regresi kurva kalibrasi standar. Penentuan antioksidan berdasarkan reaksinya dengan FeCl_3 memiliki batas deteksi $1,1389 \times 10^{-5}$ M. Hasil ini menunjukkan jumlah terkecil dari antioksidan yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon yang signifikan. Batas kuantitasi merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria kecermatan dan keseksamaan. Nilai LoQ yang didapatkan adalah $3,7967 \times 10^{-5}$ M.

c. Penentuan presisi

Penentuan presisi didasarkan pada besaran standar deviasi relatif ditujukan untuk mengetahui ketepatan ulang metoda yang digunakan. Batas nilai standar deviasi relatif yang diperbolehkan adalah 5 %. Semakin kecil harga yang diperoleh menunjukkan semakin baik metoda yang digunakan. Nilai presisi pada jeruk nipis dan jeruk madu adalah 4,9578 % dan 2,9336 %. Berdasarkan nilai presisi yang didapatkan maka metode ini sangat tepat untuk menganalisis antioksidan total karena memiliki ketepatan ulangan yang baik.

3.3 Aplikasi metoda

Aplikasi metoda pada sampel ditujukan untuk melihat sejauh mana metoda dengan kondisi-kondisi yang telah didapatkan dapat menentukan kandungan antioksidan total dalam sampel. Nilai konsentrasi antioksidan total dalam sampel dihitung dari ekstrapolasi hasil pengukuran absorbansi pada kurva kalibrasi standar asam askrobat.

Hasil pengukuran antioksidan total pada sampel jeruk dan jeruk nipis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Penentuan konsentrasi antioksidan total (dihitung sebagai asam askorbat) pada jeruk madu dan jeruk nipis (dari microsoft excel)

No	Konsentrasi (M)	
	Jeruk nipis	Jeruk madu
1	$3,1678 \times 10^{-3}$	$2,8514 \times 10^{-3}$
2	$3,2073 \times 10^{-3}$	$2,8712 \times 10^{-3}$
3	$3,5831 \times 10^{-3}$	$3,0689 \times 10^{-3}$
4	$3,3062 \times 10^{-3}$	$2,9108 \times 10^{-3}$
5	$3,3853 \times 10^{-3}$	$2,9107 \times 10^{-3}$
Jumlah	$16,6497 \times 10^{-3}$	$14,6130 \times 10^{-3}$
Rata-rata	$3,3299 \times 10^{-3}$	$2,92226 \times 10^{-3}$

Untuk melihat ketepatan metoda dengan kondisi-kondisi yang telah didapatkan dapat dilihat pada harga recoveri. Hasil perhitungan rekoveri dapat dilihat pada Tabel 3. Dari hasil perhitungan rekoveri rata-rata untuk setiap jenis adalah jeruk nipis = 100,36 % dan jeruk madu = 98,91%. Nilai rekoveri yang diperoleh menunjukkan bahwa ketepatan metoda pada penentuan konsentrasi antioksidan total dalam sampel cukup tinggi karena rekoveri yang baik menurut literatur adalah 100 ± 10 %.

Tabel 2. Nilai Rekoveri penentuan antioksidan total pada sampel (dari microsoft excel)

No	% Recoveri	
	Jeruk nipis	Jeruk
1	100,36	98,55
2	100,36	99,27
Rata - rata	100,36	98,91

IV. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa metode

yang dikembangkan ini dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk penentuan antioksidan total secara tidak langsung pada sampel dan menghemat biaya penelitian

V. Ucapan terima kasih

Ibu Ernita, S.H selaku analis Laboratorium Kimia Lingkungan yang telah banyak membantu penelitian saya selama ini. Seluruh analis dan pegawai Kantor Operasional Perguruan Tinggi Swasta (KOPERTIS) Wilayah X yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian saya selama ini.

Referensi

1. Tamat, S. R., Wikanta, T., Maulina, L. S.. **2007**. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau (*Ulva Reticulata* Forsskal). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol 5 No 1 : 31-36
2. Hanani, E., Mun'im, A. dan Sekarini, R. **2005**. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* Sp Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. Ii, No.3,127 - 133
3. Kuncahyo, I. dan Sunardi. **2007**. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi* (Snt 2007). Yogyakarta..
4. Soeksmanto, A., Hapsari, Y. dan Simanjuntak, P. **2007**. Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae). *Biodiversita*. Volume 8. No 2. Hal: 92-95
5. Bassett, J., Denney, R.C., Jeffery, G.H., Mendham, J. **1991**. *Vogel's Textbook Of Quantitative Inorganic Analysis Including Elementary Instrumental Analysis*. Longman Group UK Limited. London
6. Hassan, R.O., Faizullah, A.T. **2011**. Reverse-FIA with Spectrophotometric Detection Method for Determination of Vitamin C. *J. Iran. Chem. Soc.* Vol. 8. No. 3. pp. 662-673
7. Widyastuti, N. **2010**. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, Dan FRAP Serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. *Institut Pertanian Bogor*. Bogor
8. Harmita. **2004**. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No.3, 117 - 135
9. Yusuf, Y., Loekman, U., dan Farid, E. **1997**. Penentuan Asam Askorbat secara Spektrofotometri menggunakan pengomplek o-fenantrolin. *Jurnal Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam*. Vol 6
10. Elmagirbi, A., Sulistyarti H., Atikah. **2012**. Study of Ascorbic Acid as Iron(III) Reducing Agent for Spectrophotometric Iron Speciation. *J. Pure App. Chem. Res.* 1 (1), 11-17

OPTIMASI TRANSPOR Ni (II) ANTAR FASA DENGAN AMONIUM PIROLIDIN DITIOKARBAMAT (APDC) SEBAGAI ZAT PEMBAWA MELALUI TEKNIK MEMBRAN CAIR FASA RUAH

Yuliana, Djufri Mustafa, dan Olly Norita Tetra

Laboratorium Elektrokimia/ Fotokimia Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: olly512@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Transport Ni(II) 3.408×10^{-4} M with ammonium pirolidin dithiocarbamate (apdc) as carrier have been done bulk liquid membrane technique consist of 6 mL of Ni(II) which contain APDC, 12 mL of Na₂EDTA, and 30 mL as source phase, receiving phase, and membrane phase respectively. Percentage of Ni(II) transport was determined from percentage of Ni(II) transport to receiving phase and residue in source phase was analysed by atomic absorption spectrophotometry at 232 nm. This work was helped by magnetic stirrer at 340 rpm. The result obtained the optimum conditions of transport Ni(II) at pH 4 with concentration ratio of Ni(II) : APDC 1:10 in source phase, 0,1 M Na₂EDTA, receiving phase and source phase.

Keywords: Ni(II) transport, bulk liquid membrane, ammonium pirolidin dithiocarbamate, atomic absorption spectrophotometer.

I. Pendahuluan

Ion Ni adalah logam berat yang sangat kontaminan dalam limbah cair. Keberadaan ion-ion logam berat dalam limbah cair menghambat biodegradasi bahan-bahan pengotor organik yang terdapat dalam limbah cair. Oleh karena itu, konsentrasinya harus dikurangi pada batas yang dapat diterima, sebelum melepaskannya ke lingkungan. Pada penelitian ini dikembangkan teknik membran cair fasa ruah untuk menangani masalah tersebut.

Teknik membran cair fasa ruah merupakan suatu teknik pemisahan, pemekatan dan pemurnian spesi kimiawi yang ada dalam campuran. Membran cair merupakan pilihan handal yang dapat digunakan untuk pemisahan spesi kimia tertentu karena bersifat selektif permeabel dengan cara memanfaatkan pelarut organik ataupun anorganik tertentu yang berfungsi sebagai

lintasan transport dari komponen kimia yang akan dipisahkan¹. Transport dari suatu fasa ke fasa yang lain terjadi jika diaplikasikan gaya dorong kepada komponen-komponen dalam fasa. Gaya dorong ini umumnya berupa suatu gradient potensial kimia dapat dinyatakan dalam bentuk konsentrasi.

Pada penelitian yang dilakukan ini untuk mendapatkan kondisi optimum transport maka dilakukan variabel pengaruh pH fasa sumber, jenis reagen fasa penerima, konsentrasi APDC, konsentrasi reagen fasa penerima dan lama pengadukan. Penentuan pengaruh pH fasa sumber dilakukan terlebih dahulu karena sangat penting untuk selektivitas membran cair terhadap transport ion Ni(II). Selektivitas membran cair terhadap komponen yang akan ditranspor dapat juga diperoleh dengan

menambahkan zat pembawa tertentu sebagai mediator dan pengaruh kondisi operasi yang tepat saat pemakaian membran sehingga tidak terjadi reaksi bolak-balik². Zat pembawa ini berfungsi sebagai ligan yang mampu menarik dan menyeleksi ion-ion logam yang diinginkan di fasa sumber dan mengantarkannya ke fasa penerima berdasarkan perbedaan kelarutan ion pada antar muka dan kompetisinya dalam pembentukan kompleks. Zat pembawa yang digunakan pada penelitian yang dilakukan adalah ammonium pirolidin ditiokarbamat (APDC).

Logam berat seperti Ni(II) akan diikat oleh APDC dan membentuk senyawa dimana APDC akan melepaskan amoniumnya dan mengikat ion logam Ni(II) sehingga terbentuk kompleks khelat. Fani Armila (2012) telah mengoptimasi transpor Cd(II) antar fasa dengan ammonium pirolidin ditiokarbamat (APDC) sebagai zat pembawa melalui teknik membran cair fasa ruah. Maria Simarmata (2011) telah mengoptimasi Cu(II) antar fasa dengan APDC sebagai zat pembawa melalui teknik membran cair fasa ruah. Prima Hajati (2012) telah mengoptimasi Mg(II) antar fasa dengan APDC sebagai zat pembawa melalui teknik membran cair fasa ruah. Rahma Putri (2012) telah mengoptimasi transpor Pb(II) antar fasa dengan APDC sebagai zat pembawa melalui teknik membran cair fasa ruah.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan "Optimasi Transpor Ni(II) Antar Fasa Dengan Ammonium Pirolidin Ditiokarbamat (APDC) sebagai zat pembawa melalui teknik membran cair fasa ruah".

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer serapan atom youngling 1080, sel membran cair fasa ruah, neraca analitik ainsworth, magnetik stirrer, pH meter hanna instruments tipe HI 8010, dan alat-alat gelas kimia lainnya

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: NiCl₂.6H₂O, kloroform (CHCl₃) p.a, Amonium pirolidin ditiokarbamat (APDC), asam klorida (HCl) p.a asam nitrat (HNO₃) p.a, asam sulfat (H₂SO₄) p.a, natrium etilena diamina tetraasetat (Na₂EDTA) p.a dan akuades.

2.1 Pembuatan reagen untuk keperluan analisis

2.1.1 Pembuatan larutan fasa sumber

Sejumlah 2,0249 g NiCl₂.6H₂O dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 1000 mL, larutan yang diperoleh adalah larutan NiCl₂ 6H₂O 1000 ppm. Diambil sebanyak 1 ml, dan ditambahkan larutan APDC, kemudian diencerkan dengan akuades ke dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan 20 ppm ($3,408 \times 10^{-4}$ M). untuk mengatur pH 1 - 5 maka ditambahkan NH₄OH 0,01M untuk menaikkan pH dan menambahkan HCl 0,01 M untuk menurunkan pH sebelum sampai tanda batas labu ukur 50 ml.

2.1.2 Pembuatan larutan APDC

Sebanyak 0,0279 g APDC dilarutkan dengan akuades hingga volumenya menjadi 20 mL pada beker gelas 50 mL. Larutan yang diperoleh adalah larutan APDC dengan konsentrasi $3,408 \times 10^{-3}$ M. untuk membuat larutan kerjanya, dibuat perbandingan dengan ion Ni(II) yaitu: 2 ($2 \times 3,408 \times 10^{-4}$ M), 1 : 5 ($95 \times 3,408 \times 10^{-4}$ M), 1:10 ($10 \times 3,408 \times 10^{-4}$ M), 1 : 15 ($15 \times 3,408 \times 10^{-4}$ m), 1:20 ($20 \times 3,408 \times 10^{-4}$ M), dan 1:25 ($25 \times 3,408 \times 10^{-4}$ M).

2.1.3 Pembuatan larutan fasa penerima

Fasa penerima terdiri dari 12 ml asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄), asam nitrat (HNO₃) dan Na₂EDTA dengan konsentrasi masing-masingnya 0,1M.

2.1.4 Pembuatan larutan standar

Sejumlah 2,0249 g NiCl₂.6H₂O dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 1000 mL, larutan yang diperoleh adalah larutan NiCl₂ 1000 ppm. Diambil sebanyak 1 ml, kemudian diencerkan dengan akuades ke dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan Ni(II) 20 ppm

($3,408 \times 10^{-4}$ M). selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi 2,5,9 dan 14 ppm dalam labu ukur 10 mL.

2.2 Prosedur kerja

2.2.1 Penentuan transpor Ion Ni(II) dengan teknik membran cair fasa ruah

Proses transpor dilakukan seperti percobaan savafi (1998). Percobaan dilakukan seperti pada gambar 2. Disiapkan bekal gelas 50 mL dan dimasukkan sebagai fasa membran yaitu 30 mL kloroform. Dalam larutan fasa membran ini dicelupkan sebuah tabung kaca silindris dan dipipetkan ke dalamnya 6 mL larutan fasa sumber berupa ion Ni(II) ($3,408 \times 10^{-4}$ M) dan APDC pada pH 1 sampai 5. Diluar tabung gelas dipipetkan 12 mL fasa penerima Na_2EDTA 0,1M. teknis operasi dilakukan melalui pengadukan dengan memakai magnetic stirrer pada kecepatan 340 rpm selama 1 jam. Setelah pendiaman 15 menit, fasa penerima dan fasa sumber diambil untuk diukur jumlah konsentrasi ion yang terkandung di dalamnya dengan spektrofotometer serapan atom sehingga diperoleh kondisi optimum untuk transpor ion logam ini.

2.2.2 Penetapan konsentrasi ion dengan spektrofotometer serapan atom

Konsentrasi Ni(II) di dalam fasa sumber dan fasa penerima sesudah proses transpor ditentukan dengan spektrofotometer serapan atom melalui metode kurva kalibrasi. Pengukuran konsentrasi Ni(II) dilakukan pada panjang gelombang 232 nm. Kurva kalibrasi dibuat dari pengukuran absorbansi konsentrasi larutan standar 2,5,9,14 dan 20 ppm. Dari hasil pengukuran, dibuat persamaan regresi linear Ni(II). Kurva kalibrasi dibuat setiap kali pengukuran dan setiap kondisi percobaan. Dengan mensubstitusikan harga absorbansi ion sampel pada kurva kalibrasi standar, maka konsentrasi sampel dapat diketahui.

2.2.3 Penentuan kondisi optimum transpor Ni(II)

2.2.3.1 Pengaruh pH fasa sumber (pH 1 - 5)

Larutan induk sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Sejumlah 0,0279 gram ammonium pirolidin ditiokarbamat

(APDC) dipanaskan dalam akuades. Setelah dingin, larutan dimasukkan ke dalam labu 50 mL yang berisi Ni(II) $3,408 \times 10^{-3}$ M, lalu ditambahkan NH_4OH 0,01 M untuk menaikkan pH atau HCl 0,01 M untuk menurunkan pH, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas. Variasi pH dilakukan pada daerah pH 1 - 5.

2.2.3.2 Pengaruh reagen penerima (H_2SO_4 , HCl, HNO_3 dan Na_2EDTA)

Prosedur kerja seperti prosedur 3.4.3.1, tetapi menggunakan kondisi optimum dari pH fasa sumber dengan variasi reagen penerima yaitu asam sulfat, asam nitrat, asam klorida, dan Na_2EDTA dengan konsentrasi masing-masingnya 0,1 M.

2.2.3.3 Pengaruh konsentrasi APDC (1:2, 1:10, 1:15, 1:20, dan 1:25)

Prosedur kerja seperti prosedur 3.4.3.1, tetapi menggunakan kondisi optimum dari prosedur sebelumnya dengan konsentrasi APDC berbanding dengan konsentrasi ion logam Ni(II) pada fasa sumber yang divariasikan 1:2, 1:10, 1:15, 1:20, dan 1:25.

2.2.3.4 Pengaruh konsentrasi reagen penerima (0,05 - 0,03 M)

Prosedur kerja seperti prosedur 3.4.3.1, tetapi menggunakan kondisi optimum dari prosedur sebelumnya dengan variasi reagen penerima 0,05 - 0,03 M.

3.4.3.5 Pengaruh lama pengadukan (0,5 - 3 jam)

Prosedur kerja seperti prosedur 3.4.3.1, tetapi menggunakan kondisi optimum dari prosedur sebelumnya dengan variasi lama waktu pengadukan 0,5 - 3 jam.

III. Hasil dan Pembahasan

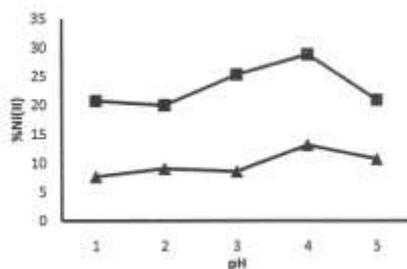
4.1 Pengaruh pH Fasa Sumber

pH merupakan factor yang sangat mempengaruhi interaksi Ni(II) dalam membentuk kompleks dengan ammonium pirolidin ditiokarbamat (APDC) seperti reaksi dibawah ini. Pada pH yang tepat akan terbentuk kompleks netral $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ dan terjadi transpor ion Ni(II) dari fasa sumber ke fasa membran karena kompleks

ini larut baik dalam pelarut organik dan selanjutnya distripping ke fasa penerima karena keberadaan ligan EDTA.



Kompleks Ni(II) dengan APDC ini merupakan kompleks tidak bermuatan dimana melalui kesetimbangan reaksi yang dibuatnya melibatkan proses transport Ni(II) dari fasa sumber ke fasa membran dan berlanjut ke fasa penerima.



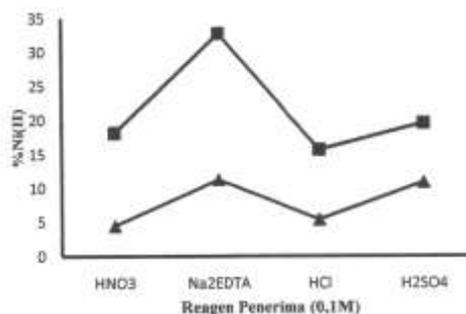
Gambar 1. Pengaruh pH terhadap jumlah Ni(II) ke fasa penerima (-■-) dan sisa Ni(II) dalam fasa sumber (-▲-)

Dari gambar 1 dapat dilihat bahwa persentase Ni(II) yang terbesar di fasa penerima terjadi pada pH fasa sumber 4, yaitu 28,89 %. Di sini dilihat bahwa pada keadaan asam, kompleks Ni(PDC)₂ mengalami kesetimbangan reaksi dengan baik untuk ditranspor karena keberadaan Na₂EDTA di fasa penerima. Zat pembawa membentuk kompleks netral dengan ion Ni(II) pada sumber karena APDC larut baik dalam pelarut air dan kurang baik pada pelarut organik. Pada pembentukan kompleks ini APDC melepaskan ammonium sehingga pH pada fasa sumber jadi semakin meningkat. Pada penelitian ini belum dilakukan penanganan terhadap peningkatan pH pada fasa sumber ini karena yang diharapkan baru sebatas mendapatkan kondisi optimum.

4.2 Pengaruh jenis reagen fasa penerima

Percobaan selanjutnya adalah menentukan reagen yang cocok untuk menarik Ni(II) ke fasa penerima. Jenis reagen penerima yang digunakan yaitu asam nitrat (HNO₃), Na₂EDTA, asam klorida (HCl), dan asam

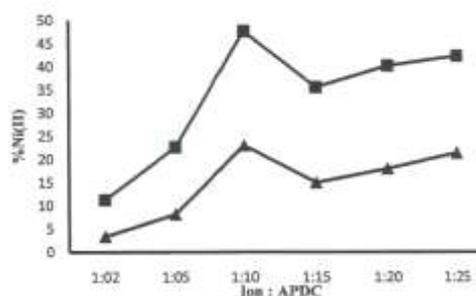
sulfat (H₂SO₄), dan dengan konsentrasi 0,1 M.



Gambar 2. Pengaruh jenis reagen fasa penerima terhadap jumlah Ni(II) ke fasa penerima (-■-) dan sisa Ni(II) dalam fasa sumber (-▲-)

Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa persentase yang terbesar di fasa penerima adalah 32,77% dengan menggunakan Na₂EDTA sebagai fasa penerima. Dalam hal ini Na₂EDTA sebagai reagen penerima ternyata dapat menarik Ni(II) ke fasa penerima lebih dibandingkan dengan reagen penerima lain di atas. Hal ini disebabkan oleh kestabilan kompleks. Ion Ni(II) lebih membentuk kompleks yang stabil dengan ligan EDTA dibandingkan dengan ligan APDC. Ligan EDTA mengandung donor elektron dari atom nitrogen sehingga menghasilkan khelat bercincin sampai dengan enam. Oleh karena itu ligan tersebut akan lebih stabil membentuk kompleks dengan logam Ni(II).

4.3 Pengaruh konsentrasi APDC



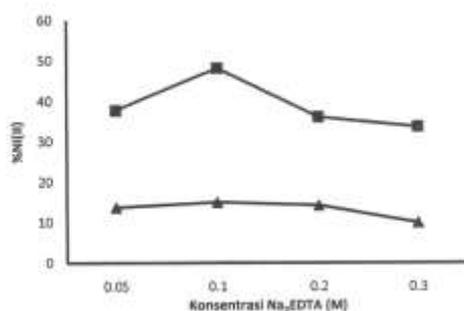
Gambar 3. Pengaruh variasi konsentrasi APDC terhadap jumlah Ni(II) ke fasa penerima (-■-) dan sisa Ni(II) dalam fasa sumber (-▲-)

Dari gambar 3 dapat dilihat bahwa APDC sebagai zat pembawa mampu meningkatkan transpor Ni(II) ke fasa penerima dan mencapai optimum pada perbandingan Ni(II) : APDC 1:10M. pada kondisi ini persentase Ni(II) yang diperoleh di fasa penerima adalah 47,59 %. Jika melebihi perbandingan ini konsentrasi ion logam yang tertransport mengalami penurunan, karena konsentrasi APDC sudah terlalu banyak sehingga transpor menjadi terhambat.

4.4 Pengaruh konsentrasi Na₂EDTA pada fasa penerima

Konsentrasi Na₂EDTA pada fasa penerima merupakan factor yang mempengaruhi transpor ion logam, yaitu berperan untuk menarik Ni(II) yang ada di fasa membran agar sampai ke fasa penerima.

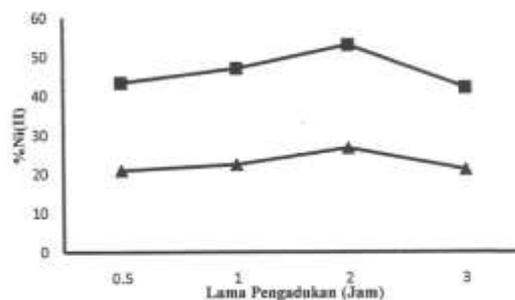
Gambar 4 memperlihatkan, pada konsentrasi Na₂EDTA 0,1 M transpor mencapai keadaan optimum dan persentase transpor ke fasa penerima mencapai 48,15 %. Ion logam Ni(II) membentuk kompleks lebih stabil dengan EDTA dari pada dengan APDC sehingga ion tersebut dapat tertarik ke fasa penerima. Jika konsentrasi EDTA lebih dari 0,1 M maka ion Ni yang tertarik ke fasa penerima akan berkurang karena konsentrasi tersebut sudah lewat jenuh



Gambar 4. Pengaruh variasi konsentrasi Na₂EDTA terhadap jumlah Ni(II) ke fasa penerima (-■-) dan sisa Ni(II) dalam fasa sumber(-▲-)

4.5 Pengaruh lama pengadukan

Lama pengadukan sangat mempengaruhi proses transport yang terjadi dari suatu ion logam karena suatu transpor dari membran cair fasa ruah melibatkan berbagai proses. Disini lama pengadukan divariasikan dari 0,5 sampai 3 jam.



Gambar 5. Pengaruh variasi pengadukan terhadap jumlah Ni(II) ke fasa penerima (-■-) dan sisa Ni(II) dalam fasa sumber (-▲-).

Gambar 5 menunjukkan hubungan antara lama pengadukan terhadap persentase transport Ni(II) melalui membrane cair fasa ruah setelah kondisi optimum dengan konsentrasi Ni(II) di fasa sumber Ni(II) $3,408 \times 10^{-4}$ M. dengan bertambahnya waktu pengadukan maka akan meningkatkan persentase transpor Ni(II) ke fasa penerima sampai mencapai waktu transpor optimum pada 2 jam. Persentase transpor Ni(II) ke fasa penerima mencapai 52,96 % dan yang tertinggal di fasa sumber yaitu 26,66%. Persentase akhir ini merupakan persentase optimum untuk sistem transpor Ni(II) dengan menggunakan APDC sebagai zat pembawa melalui teknik membran cair fasa ruah.

IV.Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa transpor Ni(II) $3,408 \times 10^{-4}$ M dengan memakai APDC $3,408 \times 10^{-3}$ M sebagai zat pembawa dapat dilakukan melalui teknik membran cair fasa ruah. Kondisi optimum dari metode transpor Ni(II) antar fasa adalah pH fasa sumber 4, perbandingan konsentrasi ion Ni(II) dengan APDC dalam fasa sumber 1:10, konsentrasi Na₂EDTA 0,1 M untuk fasa penerima, dan lama pengadukan (waktu transpor) 2 jam. Pada

kondisi ini didapatkan persentase transpor Ni(II) ke fasa penerima 52,96% dan yang tertinggal di fasa sumber yaitu 26,66 %.

V. Ucapan terima kasih

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

Referensi

1. Reddy, T.R., Ramkumar, J., Waran, C., and Reddy, A.V.R., 2010, Selective transport copper across a bulk liquid membrane using 8-hydroxy quinoline as carrier. *Journal of membrane science*. (2008). doi:10.1016/j.memsci.
2. Mulder., 1991, *Basic principle of membrane technology*. Kluwer academic publisher, dordrecht. pp.244-259.
3. Armila, F., 2012, Optimasi transpor cd(II) antar fasa dengan amonium pirolidin ditiokarbamat (apdc) sebagai zat pembawa melalui teknik membrane cair fasa ruah, Padang: Unand.
4. Simarmata, M., 2012, Optimasi transpor cd(II) antar fasa dengan ammonium pirolidin ditiokarbamat (apdc) sebagai zat pembawa melalui teknik membrane cair fasa ruah. Skripsi Mahasiswa. Padang : Unand.
5. Hajatri, P., 2012, Optimasi transport cd(II) antar fasa dengan ammonium pirolidin ditiokarbamat (apdc) sebagai zat pembawa melalui teknik membrane cair fasa ruah. Skripsi Mahasiswa. Padang: Unand.
6. Putri, R., 2012, Optimasi transport cd(II) antar fasa dengan ammonium pirolidin ditiokarbamat (apdc) sebagai zat pembawa melalui teknik membrane cair fasa ruah. Skripsi Mahasiswa. Padang: Unand.
7. Richard, A. B., 1996, *Chemical separation with liquid membrane*, Acs symposium series 642 american chemical. Washington dc. pp.180-202.
8. Darmono., 2001, *Lingkungan hidup dan pencemaran, hubungannya dengan toksikologi senyawa logam*. UI press. Jakarta.
9. Hasanah, Y.U., 2006, Ekstraksi ion fe(III) dengan ekstrak ammonium pirolidin ditiokarbamat (apdc) dalam pelarut metal isobutyl keton. Semarang. Unes.
10. Safavi, A., and Shams, E., 1998, Selective and efficient transport of hg (II) through bulk membrane using methyl red as carrier. *J. Membr. Sci*, 144 : 37 - 43.
11. Molina, C., Arenas, I., Vitoria, and Ibanez, J. A., 1997, Characterization of membrane system. Complex character of the permeability from an electrical model. *J. Phys. Chem.* 101: 10323-10331.
12. Olly, N.T., 2001, *Transport antar fasa dari ion tembaga (II) melalui membrane cair fasa ruah*. Padang: Unand.
13. Shamsipur, M., and Khalil, F., 2005, Separation study of cadmium as cd¹⁴²-through a bulk liquid membrane containing ketoconazole and oleic acid. *J. Memb, sci*. 501-505.
14. Benefield, I.D, and Joseph F.H., 1982, *Process chemistry for water and waste water treatment*. Prentice hall inc englewood cliffs. New Jersey.
15. Lagoswki, J.J., 1997, *Macmillan encyclopedia of chemistry*. Vol II. Macmillan references usa. new york. Pp 4-21.

STUDI SPEKTROSKOPI BLENDING GARAM TRANSISI BESI(II) KLORIDA PADA ZnO DALAM ASETONITRIL

Rika Fitri Yeni, Syukri, Admi

Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas.

e-mail: syukri.darajat@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Catalyst is one of important material in a reaction. The catalyst activity can be improved by combining with another substance. In this work, an iron(II) chloride blended on ZnO in a solvent ligand has been carried out. The blend obtained process was identified by Fourier Transform Infra Red (FT-IR) and Atom Absorption Spectroscopy (AAS). FTIR analyst showed that blending product occur in the form of Fe(II) acetonitrile on the surface of ZnO. From AAS measurement it can be calculated that Fe-loading and leaching are in accordance with a typical good heterogeneous catalyst.

Keyword : ZnO-Fe(II) Acetonitrile chloride, Blending, ZnO

1. Pendahuluan

Pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan pada saat sekarang ini, memberikan dampak yang sangat besar pada teknologi, khususnya bidang teknologi katalis. Katalis memiliki peranan yang penting dalam suatu proses reaksi. Adanya katalis dapat menurunkan energi aktivasi dan mempercepat laju reaksi. Pemanfaatan katalis banyak digunakan pada industri seperti energi, bahan bakar, farmasi, bahan kimia dan kesehatan. Kemampuan suatu katalis dapat ditingkatkan jika dikombinasikan dengan material lain, sehingga dampak terhadap lingkungan dapat diminimalisir sekecil mungkin.¹

Studi mengenai senyawa kompleks logam transisi dengan ligan pelarut organik menjadi kajian intensif terkait dengan sifat logam yang dapat diaplikasikan sebagai katalis. Sifat-sifat logam pusat seperti muatan, bilangan oksidasi, konfigurasi elektron dan geometri memberikan pengaruh pada reaktivitas senyawa kompleks tersebut.² Dalam beberapa pelarut organik seperti tetrahidrofur, toluen, katalis-katalis tersebut larut dengan mudah membentuk homogen. Untuk mengheterogenkannya dilakukan proses amobilisasi pada material support sehingga

dipeoleh system tidak larut. Katalis senyawa kompleks logam transisi dengan rumus umum $[M(L)_n]_x[A]_y$ dimana M adalah ion pusat, L adalah ligan lemah dan A adalah anion yang berdaya koordinasi lemah atau tidak memiliki daya koordinasi.³

Untuk proses heterogenisasi katalis senyawa kompleks logam transisi pada material pendukung telah banyak dilakukan dan memiliki daya katalitik dalam berbagai reaksi, misalnya yang diheterogenisasi pada silika modifikasi, Al-MCM-41 (Aluminium Mobile Crystalline Material-41), dan Al-MCM-48 (Aluminium Mobile Crystalline Material-48).⁴ Pratikha R.S, dkk telah mengheterogenisasi kompleks Cu(II) asetonitril pada material pendukung silika yang dimodifikasi dan aktivitas katalitiknya diuji pada reaksi transesterifikasi.⁵ Selain itu, pada reaksi pembentukan aldehid dari toluen juga telah dilakukan oleh S. Syukri, A. Sakthivel, dkk dengan mengheterogenisasikan Ru(II) (salen)(PPh₃)₂ pada MCM-41/SBA-15 mesopori.⁶

Pemanfaatan serta penggunaan katalis homogen yang diheterogenisasi pada material pendukung telah banyak dilakukan. Misalnya senyawa besi dengan ligan asetonitril yang diheterogenisasi pada silika modifikasi.

Katalis heterogen tersebut menunjukkan aktivitas katalitik dan telah diujikan pada reaksi transesterifikasi minyak untuk menghasilkan biodiesel.⁷ Keunggulan dari katalis heterogen ini yaitu sangat mudah dipisahkan dari sistem diakhir proses atau reaksi dan dapat digunakan kembali.⁸

Pada penelitian ini, telah disintesis katalis heterogen dari proses blending garam logam transisi Besi(II) klorida pada ZnO dalam asetonitril. ZnO (Seng Oksida) yang biasa digunakan sebagai katalis dapat juga digunakan sebagai material pendukung (*support*). Asetonitril yang merupakan *solvent-ligand*, selain sebagai pelarut juga diharapkan sebagai ligan dan membentuk kompleks dengan Besi(II) membentuk kompleks Fe(II) asetonitril klorida. Mengingat bahwa kompleks logam transisi memiliki daya katalitik, tujuan dari proses ini ialah mempelajari sifat interaksi antara Fe(II) asetonitril klorida dengan ZnO secara spektroskopis dengan FT-IR dan AAS.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan adalah ZnO(Merck), Fe(II) klorida tetrahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Merck), asetonitril (CH_3CN , Merck), metanol (CH_3OH , destilasi), minyak nabati.

Peralatan yang digunakan adalah: beberapa peralatan gelas, *magnetic stirrer*, neraca analitik, dan corong Buchner. Instrumen yang digunakan adalah oven, FT-IR (JASCO FT-IR 460 plus), AAS (Younglin 8020 AAS).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Aktivasi prekursor ZnO

Perlakuan pertama yang dilakukan terhadap ZnO adalah penghalusan dengan menggunakan nanomiling selama 1 jam. Kemudian ZnO diaktifasi pada temperatur 200 °C selama 5 jam. Pada saat diaktifasi ZnO harus diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* serta dibantu pengadukan manual dengan menggunakan batang pengaduk.

2.2.2. Perlakuan terhadap FeCl_2 hidrat

Material FeCl_2 hidrat yang digunakan terlebih dahulu dilakukan proses anhidrasi. FeCl_2 hidrat dipanaskan pada oven pada suhu 110-140°C selama kurang lebih 5 jam. Proses anhidrasi ditandai dengan berubahnya warna dari FeCl_2 , dimana FeCl_2 hidrat berwarna hijau sedangkan untuk FeCl_2 anhidrat yaitu coklat muda.

2.2.3. Sintesis Blending ZnO-Fe(II)Asetonitril Klorida

Disiapkan suatu perbandingan mol Fe : Zn 1:100 ; 5:100 ; 10:100. Sejumlah FeCl_2 anhidrat dilarutkan dengan 30 ml asetonitril dan direfluks selama 30 menit pada temperatur 60 °C. Proses refluks dilanjutkan selama 2 jam setelah penambahan katalis ZnO sejumlah 100 mol dengan perbandingan mol Fe : Zn 1 : 100. Padatan yang didapatkan dipisahkan dengan menggunakan kertas saring dan corong buncher, kemudian dicuci dengan asetonitril. Residu yang didapatkan disimpan dalam desikator dan dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR, SEM, XRD. Hal yang sama juga dilakukan pada sintesis *blending* ZnO-Fe(II)asetonitril klorida dengan perbandingan mol Fe : Zn = 5:100 ; dan 10:100.

2.2.4 Penentuan kandungan logam dari ZnO-Fe(II)Asetonitril Klorida

Filtrat yang diperoleh pada percobaan sebelumnya, ditentukan kadar logam Fe dengan AAS. Dari selisih jumlah Fe mula-mula yang diblending dengan jumlah Fe yang ditemukan pada filtrat, maka jumlah Fe yang tertahan pada ZnO bisa dikalkulasi. Hal yang sama juga dilakukan untuk perbandingan Fe : Zn lainnya.

2.2.5 Penentuan tingkat leaching logam ZnO-Fe(II)Asetonitril Klorida

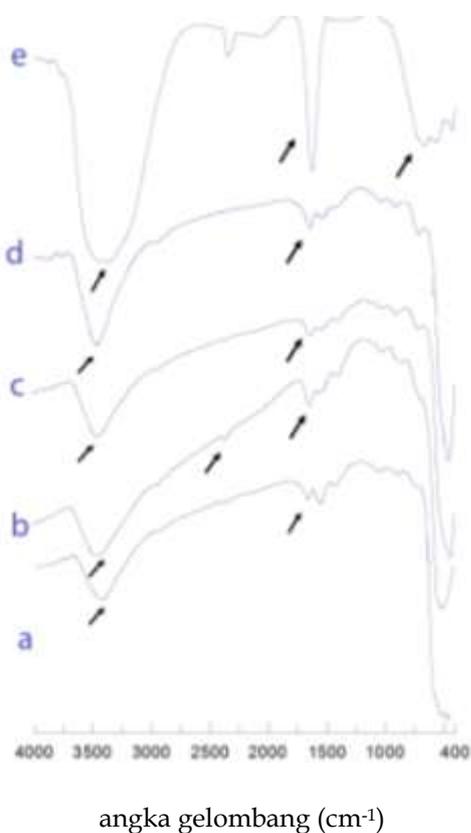
Sejumlah ZnO-Fe(II)asetonitril klorida (misalkan untuk perbandingan Fe : Zn = 1:100) dicampurkan dengan 30 mL asetonitril dalam Erlenmeyer dan distirer selama 24 jam. Filtrat yang diprediksi mengandung ion Fe(II) dipisahkan dari padatnya dengan penyaringan untuk ditentukan jumlah Fe dengan AAS. Berdasarkan kandungan Fe yang diperoleh pada percobaan sebelumnya

dan jumlah Fe pada filtrat yang diperoleh pada pengukuran dengan AAS maka tingkat leaching bisa ditentukan. Hal yang sama juga dilakukan untuk perbandingan Fe : Zn lainnya.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis Hasil Karakterisasi Katalis Teramobilisasi dengan FT-IR

Analisis FT-IR dapat digunakan untuk mengetahui gugus fungsi pada suatu senyawa organik maupun senyawa polimer pada daerah sidik jari 400-4000 cm^{-1} .



Gambar 1. Spektrum FT-IR Katalis heterogen dengan variasi perbandingan mol a. ZnO b. ZnO-Fe(II)asetonitril klorida (perbandingan mol Fe:Zn 1 : 100) c. ZnO-Fe(II)asetonitril klorida (perbandingan mol Fe:Zn 5 : 100) d. ZnO-Fe(II)asetonitril klorida (perbandingan mol Fe:Zn 10 : 100) e. FeCl_2 anhidrat

Spektrum 1a merupakan spektrum FT-IR dari ZnO yang digunakan. Serapan spesifik dari ZnO terdeteksi pada angka gelombang 400 – 500 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur dari Zn-O. Pada daerah 1250 – 1750 cm^{-1} merupakan vibrasi dari Zn-O-Zn. Serapan yang tajam terjadi pada angka gelombang 3300 – 3500 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur dari O-H gugus hidroksil dari permukaan. Spektrum 1b-1d merupakan spektrum FT-IR dari katalis blending ZnO-Fe(II)asetonitril klorida. Adanya serapan baru pada angka gelombang 2357 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur CN dari asetonitril. Serapan yang muncul dengan intensitas yang sangat lemah, sehingga diasumsikan bahwa asetonitril membentuk kompleks dengan atom pusat besi(II).

Spektrum 1e merupakan spektrum FT-IR dari FeCl_2 anhidrat. Pada spektrum serapan yang paling tajam muncul pada angka gelombang 3300 – 3500 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya vibrasi ulur O-H gugus hidroksil dari permukaan. Penarikan air dari udara pada FeCl_2 tidak dapat dihindarkan, karena sifat dari FeCl_2 yang cepat mengikat air dari udara jika dalam keadaan terbuka.

Dari pola spektra pada gambar 1 dapat disimpulkan bahwa ikatan yang terjadi antara kompleks Fe(II)asetonitril klorida dengan ZnO adalah interaksi fisika. Hal ini ditandai dengan tidak berubahnya spektrum dari ZnO jika kompleks tersebut telah terikat pada ZnO.

3.2 Analisis Uji Leaching dengan AAS

Karakterisasi dengan AAS bertujuan untuk menentukan kandungan logam yang terikat pada amobilat (metal loading) dan melihat nilai lepasnya logam ke pelarut kembali (leaching). Leaching ini bertujuan untuk melihat kestabilan atom pusat Fe untuk tertahan dalam kompleksnya. Nilai metal loading dan nilai leaching dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai metal loading dan metal leaching dalam berbagai variasi

Jenis Katalis	Metal Loading (%)	Leaching (%)
Fe : Zn = 1 : 100	0,92 %	1,14 %
Fe : Zn = 5 : 100	3,63%	0.48 %
Fe : Zn= 10 : 100	6,85%	0.68 %

Dari data pada tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai metal loading dari katalis yaitu 0,92 - 6,85%. Ini berarti sedikit logam Fe yang terikat pada kompleks. Untuk nilai uji leaching memberikan nilai yang kecil yaitu 0,48 - 1,14%. Ini dapat disimpulkan bahwa katalis yang disintesis memiliki kestabilan yang baik dan relatif kuat.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada sintesis *blending* ZnO-Fe(II)asetonitril klorida dapat disimpulkan bahwa interaksi yang terjadi pada ZnO-Fe(II)asetonitril klorida ialah interaksi fisika. Katalis ZnO-Fe(II)asetonitril klorida termasuk salah satu jenis dari katalis heterogen yang baik karena memiliki nilai metal loading yang tinggi dan leaching yang cukup kecil.

5. Ucapan terima kasih

Ucapan terimakasih kepada analis Laboratorium Kimia Material dan Laboratorium Pengukuran serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

Referensi

1. Syukri, Hijazi, A. K., Sakthivel, Al-Hmaideen, A. S., and Kühn, F. E., 2006, Heterogenization of Solvent-Ligated Copper(II) Complexes on Poly(4-vinylpyridine) for the Catalytic Cyclopropanation of Olefins, *Inorganica Chimica Acta*, 360.
2. Saito, T., Ismunandar, 1996, Buku Teks Kimia Anorganik (Terjemahan), Iwanami Publishing Company.
3. Putri, E. G., 2012, Sintesis dan Karakterisasi Katalis Kobal dan Tembaga

yang di Amobilisasi pada Silika Mesopori dan Uji Aktivitas Katalitik dalam Reaksi Transesterifikasi Minyak Sawit, *Padang : Thesis Pasca Sarjana Universitas Andalas*.

4. Sakthivel, Hijazi, A. K., Yeong, H. Y., Köhler, K., Nuyken, O., and Kühn, F. E., 2005, Heterogenization Of a Manganese(II) Acetonitrile Complex On Al-MCM-41 And Al-MCM-48 Molecular Sieves By Ion Exchange, *J. Mater. Chem.*, 15, 4441-4445.
5. Pratikha, R. S., Syukri and Admi, 2013, Synthesis And Characterization Of Acetonitrile Ligated Cu(II)-Complex And Its Catalytic Application For Transesterification Of Frying Oil In Heterogeneous Phase, *Indonesian J. of Chem.*
6. Syukri, S., Sakthivel, Sun, W., Kühn, F. E., 2009, Immobilization of Ru(II)(salen)PPh₃)₂ on Mesoporous MCM-41/SBA-15 : Characterization and Catalytic Applications, *Catalyst Letter* ,128 : 18 - 24.
7. Delia, I., Admi, Syukri, 2012, Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Katalitik Fe(II)-Asetonitril Yang Diamobilisasi Pada Silika Modifikasi Dalam Reaksi Transesterifikasi, *Jurnal Kimia Unand*, Volume 1, Nomor 1.
8. Firdaus, L. H., Wicaksono, A. R., Widayat, 2013, Pembuatan Katalis H-Zeolit Dengan Impregnasi KI/KIO₃ dan Uji Kinerja Katalis Untuk Produksi Biodiesel, *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, Volume 2, Nomor 2, 148-154.