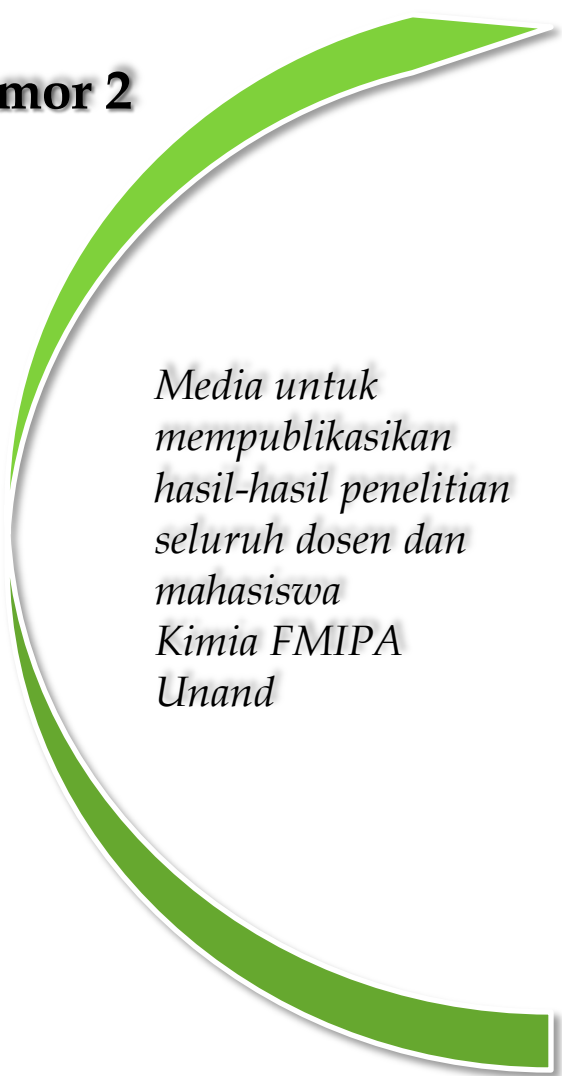


JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 4, Nomor 2
Mei, 2015



*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

Ketua : Dr. Syukri

Anggota : Dr. Adlis Santoni
Prof. Dr. Rahmiana Zein
Prof. Dr. Syukri Arief
Dr. Mai Efdi
Emil Salim, M.Sc

Sekretariat : Sri Mulya

Alamat : Jurusan Kimia FMIPA Unand
Kampus Unand Limau Manis, Padang-25163
PO. Box 143, Telp./Fax. : (0751) 71 681

Website : <http://kimia.fmipa.unand.ac.id/>

Correspond. : syukri@fmipa.unand.ac.id

DAFTAR ISI

JUDUL ARTIKEL	Halaman
1. PENENTUAN KONDISI OPTIMUM ABSORPSI CO₂ HASIL PEMBAKARAN BATUBARA OLEH LARUTAN NATRIUM HIDROKSIDA (NaOH) Amelina Dwika Hardi, Admin Alif, dan Hermansyah Aziz	1-5
2. ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK KULIT BATANG KENANGA (<i>Cananga odorata</i> (Lam.) Hook.f. & Thomson) AKTIF SEBAGAI ANTIOKSIDAN Bustanul Arifin, Donald Busrian, dan Afrizal	6-10
3. PENGUNAAN SUMBER NITROGEN TERHADAP KANDUNGAN PROTEIN DAN ASAM AMINO PADA MIKROALGA <i>Spirulina platensis</i> Magistrina Prima Putri, Sumaryati Syukur, dan Zulkarnain Chaidir	11-17
4. KONTROL PEMBENTUKAN NANOPARTIKEL PERAK MELALUI CAPPING AGENT DENGAN BANTUAN BIOREDUKTOR EKSTRAK DAUN GAMBIR (<i>Uncaria Gambir</i> Roxb) Mia Luthfia Desna, Diana Vanda Wellia, dan Syukri Arief	18-22
5. STUDI PENDAHULUAN PENENTUAN KANDUNGAN PLASTIK YANG TERDAPAT DALAM PISANG GORENG MENGGUNAKAN <i>TEXTURE ANALYZER</i> DAN MINYAK GORENG MENGGUNAKAN GC-MS Mardiana Samosir, Yulizar Yusuf, dan Zamzibar Zuki	23-28
6. ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI AKTIF DAUN TEMPUYUNG (<i>Sonchus arvensis</i> L.) TERHADAP UJI TOKSISITAS Arrijal Mustakim, Afrizal, dan Mai Efdi	29-35
7. ISOLASI MIKROALGA DARI PERAIRAN AIR TAWAR DI ALIRAN SUNGAI DAERAH LUBUK MINTURUN YANG BERPOTENSI UNTUK PRODUKSI BIODIESEL Nasrul Zuwardi, Zulkarnain Chaidir, dan Elida Mardiah	36-41

- | | | |
|-----|--|-------|
| 8. | PENGARUH BEBERAPA PERLAKUAN TERHADAP
PENGURANGAN KADAR FORMALIN PADA TAHU YANG
DITENTUKAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI
Vinda Vriska Darman, Zamzibar Zuki dan Yulizar Yusuf | 42-46 |
| 9. | ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA TRITERPENOID
DARI EKSTRAK HEKSANA PADA KULIT BATANG ASHOKA
(<i>Polyalthia longfolia</i>)
Chece Andri Saputra, Sanusi Ibrahim, dan Mai Efdi | 47-52 |
| 10. | STUDI METODE PENENTUAN <i>NIFEDIPINE</i> DENGAN TITRASI
BEBAS AIR (<i>NON AQUEOUS</i>)
Jeany Buchermi, Yulizar Yusuf, dan Umiati Loekman | 53-58 |
| 11. | STUDI SPEKTROSKOPI INFRA MERAH
KATALIS KOBALT (II) YANG DIAMOBILISASI
PADA SILIKA MODIFIKASI
Rinal Oktaviandra, Admi, Syukri, dan Hermansyah Aziz | 59-61 |
| 12. | DEGRADASI <i>TOLUIDINE BLUE</i> SECARA SONOLISIS,
FOTOLISIS, DAN OZONOLISIS DENGAN MENGGUNAKAN
KATALIS ZnO/ZEOLIT
Listria Riamayora Debataraaja, Zilfa, dan Safni* | 62-69 |

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM ABSORPSI CO₂ HASIL PEMBAKARAN BATUBARA OLEH LARUTAN NATRIUM HIDROKSIDA (NaOH)

Amelina Dwika Hardi, Admin Alif, Hermansyah Aziz

Laboratorium Fotokimia/Elektrokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: haziz13@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Along with increasing CO₂ gas emission in the air that caused by burning fossil fuels for power plan or transportation, so this emission should be controlled. Controlling the emission can be done by 'catching' CO₂ gas emission produced by fossil fuels. One of the fossil fuels is coal. The aim of this research is to know the optimum condition of absorbing CO₂ as the result of burning coal by using NaOH with influenced by coal mass, air flow velocity, and concentration of absorber fluid. For 45 mg coal sample, resulted the highest absorption ability which is 22.29%. Best flows velocity is 300 mL/min with absorption 27.60%. Air flows velocity depends on absorbing CO₂. In variation of fluid absorber concentration (NaOH), optimum condition of absorbing CO₂ is 0.325 N with absorption 35,56%.

Keywords : Absorption, Carbondioxyde, NaOH

I. Pendahuluan

Pencemaran udara adalah suatu kondisi dimana keadaan udara rusak dan terkontaminasi oleh zat-zat, baik yang tidak berbahaya maupun yang membahayakan kesehatan tubuh manusia. Salah satu gas pencemar udara adalah CO dan CO₂. Banyaknya kasus keracunan gas CO dalam ruangan karena karakteristik gas CO yang tidak berwarna dan tidak berbau, sehingga kita tidak dapat mengetahui kadar yang sekarang dihirup berbahaya atau tidak.¹

Gas CO₂ merupakan salah satu gas rumah kaca yang dapat menyebabkan pemanasan global. Produksi gas CO₂ yang terlepas ke atmosfer bumi menyebabkan terjadinya perubahan iklim dunia, sehingga emisi CO₂ ini harus diturunkan sebanyak 50% untuk menstabilkan konsentrasi CO₂ di udara. Peningkatan emisi CO₂ ini berkorelasi positif dengan peningkatan jumlah pembakaran bahan bakar fosil. Indonesia memproduksi CO₂ dari berbagai sumber, misalnya lapangan-lapangan minyak, pabrik-pabrik amonia, LNG Plant Bontang,

sektor transportasi dan sektor industri. Salah satu industri yang paling banyak menghasilkan emisi CO₂ adalah pembangkit tenaga listrik dan industri semen karena bahan bakarnya menggunakan batubara.

Pemakaian batubara tidak terlepas dari cadangan batubara yang cukup besar dimiliki Indonesia mencapai 18,7 miliar ton. Jumlah cadangan energi yang melimpah menjadikan batubara sebagai bahan bakar fosil yang paling lama dalam menyokong kebutuhan energi Indonesia. Kelemahan dari pemanfaatan batubara sebagai sumber energi diantaranya adalah batubara identik sebagai bahan bakar yang kotor dan tidak ramah lingkungan karena komposisinya yang terdiri dari C, H, O, N, S dan abu. Selain itu, kandungan C per mol batubara jauh lebih besar dibandingkan bahan bakar fosil lainnya sehingga pengeluaran CO₂ dari batubara jauh lebih banyak²

Pencegahan emisi gas carbon dioksida ke atmosfer saat ini mendapat perhatian yang besar dari berbagai kalangan di seluruh

dunia. Perhatian tersebut disebabkan karena gas karbon dioksida (CO_2) diduga merupakan penyumbang yang terbesar terhadap peristiwa pemanasan global di dunia ini. Perubahan iklim karena emisi CO_2 sebagai hasil kegiatan manusia sudah selayaknya dipikirkan secara serius. Untuk mencegah cepatnya perubahan iklim, diperlukan satu aktifitas untuk menstabilkan konsentrasi CO_2 di udara.

Pembakaran bahan bakar fosil baik untuk keperluan pembangkit tenaga listrik atau transportasi merupakan penyumbang yang besar dari emisi CO_2 ke atmosfer. Karena kegiatan tersebut menyumbang emisi yang besar, maka sudah selayaknyalah emisi gas CO_2 dari kegiatan tersebut mulai diupayakan untuk dikendalikan. Pengendalian tersebut dapat dilakukan dalam bentuk 'penangkapan' gas CO_2 yang disebut *Carbon Capture and Storage* yang dihasilkan dari proses pembakaran bahan fosil.³

Ada 2 jenis absorpsi, yaitu kimia dan fisis. Absorpsi kimia melibatkan reaksi kimia antara pelarut cair dengan arus gas dan solut tetap di fase cair. Dalam absorpsi fisis, solut dalam gas mempunyai kelarutan lebih besar dalam pelarut cairan, sehingga solut berpindah ke fase cair. Absorpsi dengan reaksi kimia lebih menguntungkan untuk pemisahan. Meskipun demikian, absorpsi fisis menjadi penting jika pemisahan dengan reaksi kimia tidak dapat dilakukan. Secara umum, faktor-faktor yang mempengaruhi absorpsi adalah kelarutan (solubility) gas dalam pelarut dalam kesetimbangan. Pada umumnya, naiknya temperatur menyebabkan kelarutan gas menurun⁴

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan yaitu batubara sebagai sampel, norit sebagai standar penentuan C-Organik, asam klorida (HCl) 0,2 N, larutan NaOH dalam berbagai konsentrasi (0,125 N; 0,2 N; 0,25 N; 0,275 N; 0,3N; 0,325 N; 0,35 N), phenolptalein (pp), spiritus, aquadest dan asam oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$).

Alat yang digunakan yaitu aerator, sumber listrik (raket nyamuk), bunsen (lampu spiritus), neraca analitik (KERN ALJ 220-4NM), klem, standar (statif), sambungan pipa, slang, erlenmeyer buchner, tabung nessler dan alat gelas lainnya.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Pembuatan larutan

2.2.1.1 Larutan NaOH (0,125 N; 0,2 N; 0,25 N; 0,275 N; 0,3N; 0,325 N; 0,35 N)

Larutan NaOH dengan berbagai konsentrasi dibuat dengan cara dilarutkan dalam labu ukur 500 mL dengan menambahkan aquadest sampai tanda batas kemudian distandarisasi dengan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$

2.2.1.2 Larutan HCl

Larutan HCl dibuat dengan penengerceran bertingkat dari HCl p.a 37% = 12,06 N. HCl 12,06 N diencerkan menjadi 2 N dengan memipet 16,56 mL HCl 12,06 N, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang sebelumnya telah diisi dengan sedikit aquadest, aduk dan tambahkan aquadest sampai tanda batas. Untuk membuat HCl 0,2 N, 10 mL larutan 2 N dipipet dan encerkan kembali dengan labu 100 mL. HCl 0,2 N distandarisasi dengan NaOH yang telah distandarisasi dengan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$

2.2.1.3 Larutan standar asam oksalat ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$)

Larutan standar asam oksalat 0,2 N dibuat dengan menimbang 1,26 gr asam oksalat (BE = 63) dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan menambahkan aquadest sampai tanda batas.

2.2.2 Rangkaian alat

Pertama diambil standar dan 3 buah klem, letakkan klem 1 untuk penompang tabung nessler berisi NaOH untuk menangkap gas CO_2 dari udara luar, sebelum ketabung sampel yang akan dibakar, dengan demikian gas CO_2 yang diperoleh dari hasil pembakaran adalah lebih murni dan tidak tercampur dengan gas CO_2 dari udara luar. Klem ke-2 diletakkan paling bawah dan menghadap kedepan untuk meletakkan sampel yang akan dibakar. Klem ke-3 terletak dibelakang paling atas untuk meletakkan Erlenmeyer Buchner berisi

NaOH untuk menampung CO_2 hasil pembakaran. Pada ujung pipa gas masuk ke Erlenmeyer Buchner diberi batu berongga agar udara yang mengalir dengan kecepatan tertentu dapat membentuk gelembung-gelembung kecil dan dapat bereaksi dengan NaOH secara merata.

Aerotor dihubungkan ke tabung nessler, disambungkan dengan posisi tegak pada klem 1, dihubungkan dengan slang ke klem 2 untuk mengalirkan udara pembakaran. Tabung 2 dengan posisi miring dihubungkan dengan slang untuk mengalirkan gas ke buchner. Di bawah tabung sampel diletakkan Bunsen untuk pembakaran. Dalam tabung pembakaran diberi 2 kawat tembaga ke dalamnya yang dihubungkan ke sumber listrik untuk mempercepat proses pembakaran. Rangkaian alat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Rangkaian Alat

2.2.3 Cara kerja

Sampel dimasukkan ke dalam tabung tempat sampel dengan corong, kemudian disambungkan pada penutupnya, periksa sumber listrik apakah jarak kedua ujung tembaga cukup untuk mengeluarkan percikan api. Larutan NaOH 0,2 N dengan volume tertentu dimasukkan kedalam tabung nessler yang tegak dan erlenmeyer buchner.

Pembakaran dilakukan, dengan menghidupkan api pada Bunsen dan aerator dihidupkan. Pembakaran spritus di

dekatkan ke tabung yang berisi sampel secara perlahan untuk menghindari pecahnya tabung. Setelah beberapa saat, pembakaran dibantu dengan percikan arus listrik pada ujung tembaga, hal ini dilakukan beberapa kali sampai pembakaran selesai. Perubahan wujud dan warna larutan NaOH pada Erlenmeyer Buchner diamati.

Setelah diamati, matikan Bunsen namun aeroator tetap dihidupkan agar sisa-sisa CO_2 yang tertinggal di dalam tabung pembakaran dapat seluruhnya mengalir ke Erlenmeyer Buchner. Erlenmeyer Buchner dilepaskan dari klem, larutan NaOH yang telah menyerap CO_2 dipipet 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 125 mL. ditambahkan 1 tetes indikator pp terjadi perubahan warna jadi merah muda. Larutan yang telah ditambahkan indikator pp dititrasi dengan HCl 0,2 N. Volume HCl yang digunakan dicatat. Lakukan hal yang sama dengan massa yang berbeda.

III. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Pengaruh Massa Norit Terhadap Efisiensi Penyerapan CO_2 Oleh Larutan NaOH

Tabel 1. Pengaruh Massa Norit Terhadap Efisiensi Absorpsi CO_2

Massa Norit (mg)	mmol C Teori	mmol C Percobaan	% Absorpsi
45	3,75	0.903	24.08
70.7	5,8	1.164	20.07
98	8,1	1.847	22.80
123	10,25	2.202	21.48

Dari tabel 1, dapat dilihat semakin besar massa norit, semakin besar juga nilai C-Organik secara teori yang terkandung didalamnya. Begitu juga dengan nilai C-Organik secara percobaan, berbanding lurus dengan massa norit. Tetapi % absorpsi terbesar terdapat pada massa norit 45 mg.

Konsentrasi NaOH yang digunakan adalah 0,2 N dan konsentrasi HCl adalah 0,245 N

3.2 Pengaruh Kecepatan Aliran Udara Terhadap Efisiensi Penyerapan CO₂ Oleh Larutan NaOH Pada Pembakaran Norit

Untuk menentukan absorpsi terbaik pada kecepatan aliran tertentu, massa norit yang digunakan adalah 45 mg. Konsentrasi NaOH yang digunakan adalah 0,2 N dan konsentrasi HCl adalah 0,245 N. Dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Kecepatan Aliran Udara Terhadap Absorpsi CO₂

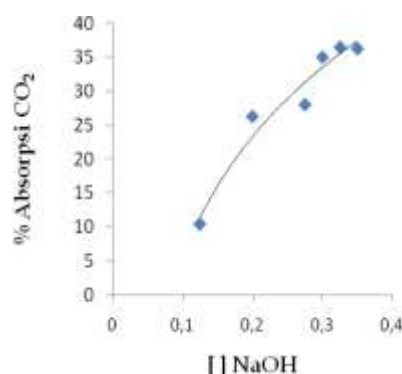
Kecepatan (mL/menit)	mmol CO ₂	% absorpsi
120	0.903	24.08
300	0.986	26.29
420	0.925	24.67

Dari tabel 2, dapat dilihat bahwa kecepatan aliran yang paling baik dalam proses penyerapan adalah pada kecepatan 300 mL/menit. Hal ini dikarenakan pada operasi absorpsi dengan kecepatan aliran udara yang tinggi, waktu kontak antara NaOH dengan CO₂ untuk jumlah molekul yang sama akan semakin kecil. Waktu kontak yang singkat ini menyebabkan transfer massa yang terjadi lebih sedikit dan jumlah CO₂ yang terserap lebih sedikit. Begitu juga dengan kecepatan alir yang terlalu lambat, jumlah CO₂ terserap juga akan semakin kecil⁵. Hal ini disebabkan pada kecepatan alir udara yang terlalu rendah menyebabkan pembakaran tidak sempurna sehingga tidak semua karbon yang dirobah menjadi CO₂, sebagian dapat berada dalam bentuk gas karbon monoksida, CO.

3.3 Pengaruh Konsentrasi Larutan NaOH Sebagai Penyerap CO₂ Pada Pembakaran Norit

Dari poin 3.1, massa norit yang memiliki % absorpsi tertinggi adalah 45 mg dan dari poin 3.2 pengaruh kecepatan aliran udara yang memiliki % absorpsi tertinggi adalah

300 mL/menit. Pada massa sama dan kecepatan aliran yang sama, didapatkan kondisi optimum penyerapan CO₂ terdapat pada konsentrasi 0,325 N dengan % absorpsi 36,53 %. Grafik pengaruh konsentrasi NaOH terhadap % absorpsi CO₂ pada pembakaran norit dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan Konsentrasi Larutan NaOH Terhadap % Absorpsi CO₂

3.4 Pengaruh Massa Batubara Terhadap Efisiensi Penyerapan CO₂ Oleh Larutan NaOH

Penentuan mmol karbon batubara secara teori didasarkan pada mmol karbon pada norit. Konsentrasi NaOH yang digunakan adalah 0,2 N dan konsentrasi HCl adalah 0,245 N. Untuk mmol karbon secara percobaan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Massa Batubara Terhadap Efisiensi Penyerapan CO₂ Oleh Larutan NaOH

Massa Batubara (mg)	mmol CO ₂ Teori	mmol CO ₂ Percobaan	% Absorpsi
45	3,75	0.836	22.29
70,7	5,8	1.256	21.65
98	8,1	1.525	18.82
123	10,25	1.935	18.88

Pada tabel 3 diatas, % absorpsi yang paling tinggi adalah pada massa batubara 45 mg.

3.5 Pengaruh Kecepatan Aliran Udara Terhadap Efisiensi Penyerapan CO_2 Oleh Larutan NaOH Pada Pembakaran Batubara

Pada variasi kecepatan aliran udara, massa batubara yang digunakan adalah 45 mg. Konsentrasi NaOH adalah 0,2 N dan konsentrasi HCl adalah 0,245 N. Sama halnya dengan norit. Mmol CO_2 percobaan pada batubara dan % absorpsi terdapat pada Tabel 4.

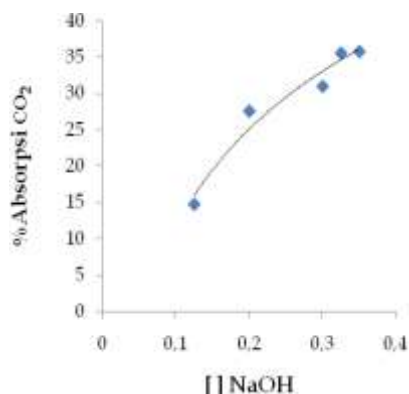
Tabel 4. Pengaruh Kecepatan Aliran Udara Terhadap Absorpsi CO_2

Kecepatan (mL/menit)	mmol CO_2	% absorpsi
120	0.836	22.29
300	1,035	27.60
420	0.922	24.59

Dari tabel 4, dapat dilihat bahwa % absorpsi yang paling tinggi terdapat pada kecepatan aliran udara 300 mL/menit.

3.6 Pengaruh Konsentrasi Larutan NaOH Sebagai Penyerap CO_2 Pada Pembakaran Batubara

Pada massa yang sama yaitu 45 mg dan kecepatan aliran udara yang sama yaitu 300 mL/menit, maka untuk mengetahui kondisi optimum penyerapan dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi larutan penyerap. Grafik pengaruh konsentrasi NaOH terhadap % absorpsi terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan Konsentrasi Larutan NaOH Terhadap % Absorpsi

Dari Gambar 3, terlihat % absorpsi mulai konstan pada konsentrasi 0,325 N dengan % absorpsi adalah 35,56%.

IV. Kesimpulan

Penyerapan CO_2 hasil pembakaran batubara oleh larutan NaOH dipengaruhi oleh massa sampel, kecepatan aliran udara dan konsentrasi larutan penyerap. Untuk massa 45 mg, % absorpsi CO_2 pada pembakaran batubara adalah 22,29 %. Kecepatan aliran udara adalah tertinggi pada 300 mL/menit dengan % absorpsi adalah 27,60%. Pada kondisi tersebut, konsentrasi larutan NaOH optimum adalah pada 0,325 N dengan % absorpsi 35,56%.

V. Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada semua analis laboratorium Jurusan Kimia yang telah membantu jalannya penelitian ini.

Referensi

1. Wisnu, Baskoro., Iwan, Setiawan., Darjat. Sistem pengaman dan monitoring kadar CO_2 berlebih dalam ruangan berbasis mikrokontroler atmega 8535. Jurusan Teknik Universitas Dipenogoro.
2. Dewi, Istiyane. **2011**. Pemanfaatan emisi CO_2 dari PLTU batubara dalam pengolahan limbah cair domestik berbasis mikro alga. Pasca Sarjana Universitas Indonesia.
3. Mulyanto, A., Aviantara, B., Dwindrata. **2012**. Penerapan teknologi penangkapan karbon dioksida dari udara bebas menggunakan larutan sodium hidroksida. *Jurnal Teknik Lingkungan*. Jakarta, Juni. ISSN 1441-318X
4. Hairiah, Kurniatun. **2011**. Pengukuran cadangan karbon. Malang : Universitas Brawijaya.
5. Maarif, Fuad., Arif, F Januar. Absorpsi gas karbondioksida (CO_2) dalam biogas dengan larutan NaOH secara kontinyu. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Dipenogoro : Semarang.

PENGUNAAN SUMBER NITROGEN TERHADAP KANDUNGAN PROTEIN DAN ASAM AMINO PADA MIKROALGA *Spirulina platensis*

Magistrina Prima Putri, Sumaryati Syukur, dan Zulkarnain Chaidir

Laboratorium Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

e-mail : primagistrina@gmail.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Through an experiment process, the usage of nitrogen source to protein and amino acid content in microalgae *Spirulina platensis* has been found. This research aimed to analyze protein and amino acid content in *Spirulina platensis* cultured in two mediums; medium with NaNO_3 as nitrogen source and urea as nitrogen source, and to determine the best nitrogen source in *Spirulina platensis* growth. Protein extraction performed in alkaline extraction method for 5 hours and followed by precipitation in pH 3. Amino acid analysis was performed with Aminoacid Analyzer. Protein content determination was carried out using Bradford method that shows the highest protein content in urea biomass culture is 768.17 ppm. Sodium nitrate biomass culture shows the lower protein content, that is 146.4 ppm. The growth of *Spirulina platensis* was done with spectrophotometer at 560 nm. Amino acid analysis shows that NaNO_3 biomass culture yield the higher amino acid content than urea, but urea biomass culture shows the best growth with the higher absorbant than NaNO_3 biomass culture.

Keywords: *Spirulina platensis*, Urea, NaNO_3 , Amino acid

I. Pendahuluan

Protein merupakan makromolekul yang memiliki peranan penting bagi makhluk hidup^[1]. Salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan protein yaitu mikroalga. Mikroalga merupakan mikroorganisme eukariot ataupun prokariot yang hidup di perairan.

Mikroalga umumnya dikenal dengan sebutan fitoplankton, sedangkan fitoplankton sendiri dalam dunia pembenihan sering hanya disebut alga^[2]. Mikroalga berguna sebagai sumber makanan yang penting bagi organisme-organisme lain karena ia bersifat autotrof^[3].

Mikroalga membutuhkan nitrogen untuk memproduksi protein dalam selnya. Sumber nitrogen dalam media pertumbuhan mikroalga umumnya berasal dari nitrat, ammonium, dan urea^[4].

Pada penelitian ini digunakan NaNO_3 dan urea sebagai sumber nitrogen. Urea

merupakan pupuk dengan harga murah yang umum digunakan dalam bidang

pertanian, sedangkan NaNO_3 merupakan sumber nitrogen yang umum digunakan untuk kultur mikroalga dalam skala laboratorium. Perbedaan sumber nitrogen dalam kultur akan menghasilkan perbedaan kadar protein pada masing-masing biomasa. Perbedaan sumber nitrogen juga dapat menyebabkan perubahan genetik pada mikroalga. Hal ini sangat erat kaitannya dengan asam amino penyusun protein tubuhnya^[4,5].

Mikroalga *Spirulina platensis* merupakan mikroalga penghasil protein tinggi, yaitu sebanyak 60-70% dari berat kering selnya^[6,7]. Mikroalga ini umumnya hidup di laut, namun juga banyak ditemukan di perairan tawar. *Spirulina platensis* merupakan mikroalga hijau-biru (cyanobacterium) yang berbentuk filamen. *Spirulina* memiliki dinding sel yang tipis

dengan garis tengah sel berkisar 1-12 mikron. *Spirulina* bergerak dengan cara menggelingi sepanjang garis tengah selnya. *Spirulina* merupakan mikroorganisme yang berkembang biak dengan cara membelah diri^[2].

Kadar protein pada biomasa *Spirulina* dapat ditentukan menggunakan metoda Bradford. Metoda Bradford mampu menganalisa protein lebih cepat dengan reaksi pembentukan senyawa kompleks antara comassie blue dengan protein, disamping itu metoda ini menggunakan reagen lebih sedikit daripada metoda lowry serta memiliki interferensi yang kecil dari zat lain^[7,8].

Kualitas protein juga ditentukan oleh jenis dan jumlah asam amino penyusunnya. Oleh karena itu perlu dilakukan identifikasi asam amino pada biomasa *Spirulina*, pada penelitian ini dilakukan menggunakan alat Aminoacid Analyzer.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar protein dan asam amino pada biomasa *Spirulina platensis* yang dikultur dengan sumber nitrogen urea dan sumber nitrogen NaNO_3 . Mengetahui sumber nitrogen yang baik untuk pertumbuhan *Spirulina platensis* dalam medium BBM.

II. Metodologi Penelitian

2.1 Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah mikroalga *Spirulina platensis* yang diperoleh dari BBPBAP (Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau), Jepara, Indonesia, media pertumbuhan (NaHCO_3 , NaCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, fertilizer), akuades, urea, NaNO_3 , NaOH , EDTA (ethylenediamine-tetraacetic acid), reagen Bradford dan HCl. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini ialah peralatan gelas, pompa aquarium, pipa udara, net plankton, kertas pH, mortar, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 20 Thermo Scientific), neraca analitik (Kern & Sohn GmbH), mikroskop cahaya, magnetic stirrer, ultrasentrifus, ultrasonikator, dan Amino Acid Analyzer.

2.2 Prosedur penelitian

2.2.1 Identifikasi Morfologi Mikroalga

Isolat mikroalga yang diperoleh dari BBPBAP dilihat morfologinya menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x, kemudian morfologi tersebut dicocokkan dengan morfologi *Spirulina platensis* pada buku identifikasi fitoplankton.

2.2.2 Pembuatan Medium Pertumbuhan

Medium pertumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah Bold Basal Medium (BBM) dengan sumber nitrogen NaNO_3 dan medium BBM dengan sumber nitrogen urea, masing-masing medium diatur pH nya hingga 10^[10]. Medium BBM dengan sumber nitrogen NaNO_3 mengandung 0,024 g/L NaNO_3 , 0,075 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,025 g/L NaCl , 0,075 g/L K_2HPO_4 , 0,175 g/L KH_2PO_4 , 0,025 g/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 27,22 g/L NaHCO_3 , serta *trace element*. Medium BBM dengan sumber nitrogen urea dibuat dengan komposisi serupa dengan medium BBM namun NaNO_3 diganti dengan urea sebanyak 0,174 g/L. Medium diautoclave selama 30 menit dan didinginkan hingga suhu kamar.

2.2.3 Pertumbuhan Mikroalga

Isolat *Spirulina platensis* diukur optical density awalnya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm. Isolat tersebut kemudian dikultur ke dalam medium dengan perbandingan isolat dan medium 1:9 (v/v). Kultur diaerasi menggunakan pompa aquarium selama proses pengukuran kurva pertumbuhan. Kultivasi ini dilakukan pada suhu ruang dibawah penyinaran cahaya matahari. Pertumbuhan diukur tiap hari menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560 nm sampai didapatkan fasa stasioner^[11].

2.2.4 Persiapan Biomasa

Isolat mikroalga dikultur kembali ke dalam medium BBM dengan perbandingan isolate dan media 1:9 (v/v). Kultivasi dilakukan sampai kultur berada pada fasa akhir eksponensial. Kultur disaring menggunakan net plankton dan dikering anginkan. Biomasa kering dihaluskan menggunakan mortar, kemudian disimpan pada botol vial tertutup.

2.2.5 Ekstraksi dan Isolasi Protein

Proses isolasi diawali dengan melakukan ekstraksi protein. Proses ini dilakukan dengan melarutkan biomasa kering menggunakan akuades dengan perbandingan 1:20 (b/v). Biomasa disonikasi selama 3 menit menggunakan ultrasonikator, kemudian didiamkan dalam ice bath selama 2 menit. Natrium hidroksida 2M ditambahkan ke dalam biomasa yang telah disonikasi sampai pH 11. Biomasa pH 11 distirer selama 5 jam pada suhu 60°C, kemudian disentrifus dengan kekuatan 20.000 gravitasi selama 15 menit pada suhu 20°C untuk proses isolasinya^[9,12]. Pengendapan protein dilakukan pada suhu dingin dengan menambahkan HCl 2M pada isolat protein sampai pH 3, kemudian larutan disentrifus menggunakan ultrasentrifus dengan kekuatan 20.000 gravitasi selama 15 menit dan pada suhu 5°C. Pelet ditambah buffer fosfat pH 7 0,01 M, kemudian disimpan pada suhu dingin untuk analisa berikutnya^[12].

2.2.6 Penentuan Kadar Protein

Kandungan protein dianalisa menggunakan metoda Bradford. Proses ini diawali dengan pembuatan larutan standar Bovine Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 7,8-1000 ppm. Larutan standar BSA masing-masing diambil 5 mL dan ditambah 5 mL reagen Bradford, kemudian diinkubasi selama 15 menit. Larutan standar diukur serapannya pada panjang gelombang 595 nm. Pelet yang telah ditambah buffer fosfat diambil 5 mL dan ditambah reagen Bradford 5 mL, kemudian diinkubasi 15 menit. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 595 nm. Konsentrasi protein dapat ditentukan dengan persamaan regresi^[8].

2.2.7 Identifikasi Asam Amino

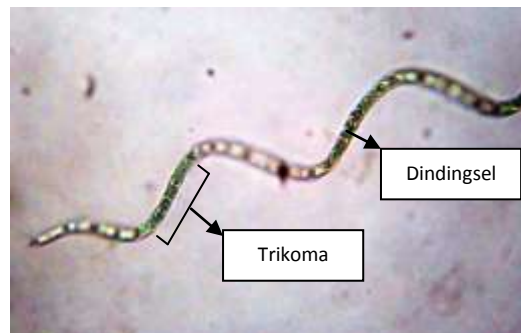
Identifikasi asam amino diawali dengan menghidrolisis sampel menggunakan HCl 6 N. Sampel biomasa *Spirulina platensis* kultur urea dan kultur NaNO₃ masing-masingnya ditimbang sebanyak 50 mg dan dimasukkan ke dalam tabung pyrex 10 mL bertutup. Sampel ditambah HCl 6 N sebanyak 5 mL dan dialiri dengan gas

nitrogen murni, kemudian sampel dioven pada suhu 110°C selama 24 jam. Sampel yang telah dihidrolisis dibiarkan sampai suhu ruang dan disaring menggunakan kertas saring Whatman no.41. Filtrat dipipet 1 mL ke tabung 10 mL dan dibekukan dengan es kering, pengeringan dilanjutkan dalam pengering vakum. Sampel hidrolisis kering dilarutkan kembali dengan HCl 0,1 N hingga volume 3 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex, selanjutnya disaring menggunakan membran dengan ukuran 0,22µm. Filtrat hasil saringan diinjeksikan pada alat Amino Acid Analyzer (AAA) sebanyak 100µL. Amino Acid Analyzer menggunakan resin penukaran ion (*Cation exchange*)W3 dengan ukuran kolom 6x460 mm, tinggi resin 220 mm dan suhu kolom 70°C. Larutan buffer yang digunakan adalah larutan trisodium sitrat. Kecepatan alir larutan buffer 33mL/jam dan kecepatan alir larutan ninhidrin 16,5 mL/jam, serta kecepatan recorder 6 inch/jam dan tekanan kolom 450 psi. Konsentrasi larutan standar yang diinjeksikan yaitu 0,250 µmol/mL^[13].

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Identifikasi Morfologi Mikroalga

Hasil penelitian memperlihatkan morfologi mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Spirulina platensis*. Pengamatan ini dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x.

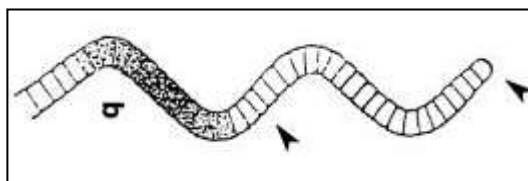


Gambar 1. Morfologi *Spirulina platensis* hasil identifikasi mikroskop cahaya perbesaran 100x

Hasil pengamatan menggunakan mikroskop cahaya menunjukkan *Spirulina platensis* tidak memiliki flagel sebagai alat gerak. Morfologi mikroalga yang didapat

berupa filamen dengan bentuk spiral berwarna hijau kebiruan. Hal ini sesuai

dengan morfologi *Spirulina platensis* pada buku identifikasi fitoplankton.



Gambar 2. Morfologi *Spirulina platensis* pada buku identifikasi fitoplankton^[14]

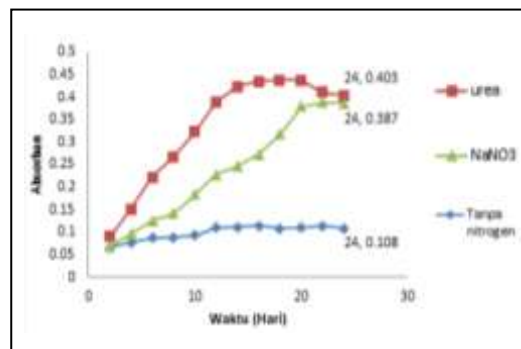
Adapun ciri-ciri morfologi *Spirulina platensis* yaitu berbentuk filamen yang tersusun dari trikoma multiseluler yang berbentuk spiral dan bergabung menjadi satu, memiliki sel berkolom, autotrof, dan berwarna hijau kebiruan.

3.2 Pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga secara visual dapat ditandai dengan berubahnya warna kultur. Pada penelitian ini didapatkan warna kultur hari pertama yaitu bening kehijauan dengan perbandingan media dan isolat mikroalga 9:1. Warna kultur pada hari ke 10 berubah menjadi warna hijau yang lebih pekat daripada hari pertama. Hal ini menunjukkan terjadinya pertumbuhan mikroalga. Pertumbuhan mikroalga juga dapat diamati dengan pengukuran absorban menggunakan spektrofotometer. Absorban yang didapatkan mewakili jumlah sel pada kultur. Jumlah sel sebanding dengan besarnya absorban yang didapatkan^[9]. Pada awal kultur didapatkan nilai absorban yang kecil, hal ini menandakan jumlah sel yang ada dalam kultur masih sedikit. Jumlah sel dalam kultur akan terus bertambah selama fasa eksponensialnya.

Nitrogen merupakan komponen yang sangat penting dalam pertumbuhan mikroalga. Berdasarkan kurva pertumbuhan yang didapatkan dalam penelitian ini (**Gambar 3.**), *Spirulina platensis* yang dikultur dalam media tanpa nitrogen memiliki pertumbuhan yang

sangat buruk. Pada hari kedua sampai hari ke 10 *Spirulina platensis* mengalami adaptasi, hal ini ditandai dengan kenaikan nilai absorban yang tidak signifikan setiap dua harinya. Terjadi kenaikan absorban pada hari ke 10 sebesar 0,017 A.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *Spirulina platensis*

Hal ini menunjukkan bahwa kultur memasuki fasa eksponensial, namun fasa eksponensial pada kultur tanpa nitrogen ini sangat pendek akibat kurangnya nitrogen dalam media kultur sehingga sel tidak mampu membentuk protein penyusun tubuhnya. Alasan inilah yang menyebabkan sel tidak dapat membelah dengan baik dan tidak dapat menghasilkan sel baru yang lebih banyak.

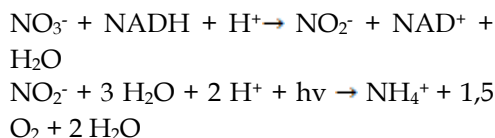
Secara garis besar kepadatan sel pada kultur urea lebih tinggi daripada kultur NaNO₃ (**Gambar 3.**), hal ini disebabkan karena urea mudah membentuk ion amonium. Urea dikonversi menjadi ion amonium dalam sel mikroalga dengan bantuan enzim urease (urea amidohidrolase) atau urea amidoliase. Kedua enzim tersebut umumnya ada pada sel alga uniseluler. Ion amonium akan digunakan untuk membentuk asam amino esensial dalam proses metabolisme tubuhnya^[15]. Berikut ini merupakan reaksi enzimatik dalam konversi nitrogen menjadi ion amonium di dalam sel^[16]:

- Mekanisme urea amidohidrolase

$$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$$
- Mekanisme urea amidoliase

$$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{ATP} + \text{HCO}_3^- + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+ \rightleftharpoons \text{allophanate} + \text{ADP} + \text{Pi}$$

$$\text{Allophanate} \rightarrow 2\text{NH}_3 + 2\text{CO}_2$$
- Mekanisme reduksi nitrat



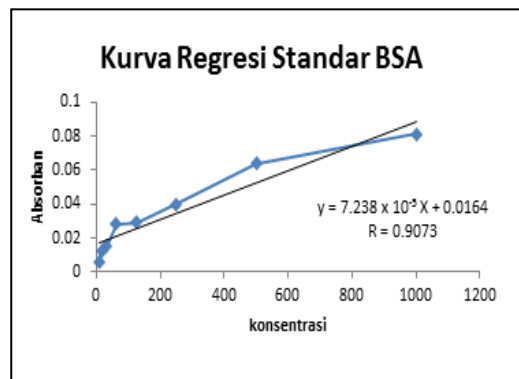
Pertumbuhan *Spirulina* kultur urea lebih cepat mencapai fasa stasionernya. Hal ini disebabkan mudahnya urea terkonversi menjadi ion amonium, sehingga pembelahan sel terjadi lebih cepat. Pada masa kultur *Spirulina* akan terus menyerap nitrogen dari media dan proses pembentukan protein akan terus berlanjut. Pembelahan sel akan berkurang saat kultur memasuki fasa stasioner. Ada beberapa faktor yang menyebabkan kultur mencapai fasa stasioner, salah satunya yaitu ketersediaan nitrogen dalam kultur yang mulai berkurang.

Pada fasa stasioner akan terjadi kompetisi antar sel dalam menyerap nutrisi yang mulai terbatas, nutrisi ini dapat berupa nitrogen. Sel mengonsumsi nitrogen lebih sedikit daripada saat fasa pertumbuhan, maka pada fasa ini sel tidak dapat menghasilkan protein sebanyak pada fasa pertumbuhan, oleh sebab itu waktu yang baik untuk isolasi protein pada mikroalga dilakukan saat sel berada dalam fasa eksponensial. Sel lebih banyak menghasilkan metabolit sekunder pada fasa stasioner. Penumpukan metabolit sekunder yang diproduksi sel akan menyebabkan sel memasuki fasa kematian.

3.3 Penentuan Kadar Protein

Hasil yang didapatkan pada pengukuran kadar protein menggunakan metoda Bradford yaitu kadar protein pada kultur urea sebesar 768,17 ppm, sedangkan kadar protein pada NaNO_3 sebesar 146,45 ppm. Hasil ini diperoleh dengan persamaan regresi linier standar BSA.

Hal ini disebabkan urea lebih mudah membentuk ion amonium dalam sel mikroalga dengan bantuan enzim urease. Ion amonium akan masuk ke dalam struktur protein membentuk NH_2 . Semakin banyak ion amonium yang terbentuk maka semakin banyak pula protein yang dapat dihasilkan.



Gambar 4. Kurva regresi standar BSA

Hasil penentuan kadar protein dalam biomassa kultur NaNO_3 sangat kecil bila dibandingkan dengan kadar protein dalam biomassa kultur urea, meskipun konsentrasi nitrogen yang ada pada kedua sumber nitrogen disamakan. Hal ini disebabkan jumlah atom nitrogen pada urea dua kali jumlah atom nitrogen pada NaNO_3 , selain itu NaNO_3 tidak dapat diubah secara langsung menjadi ion amonium oleh enzim urease dalam sel mikroalga sehingga protein yang mampu dihasilkan mikroalga kultur NaNO_3 kecil.

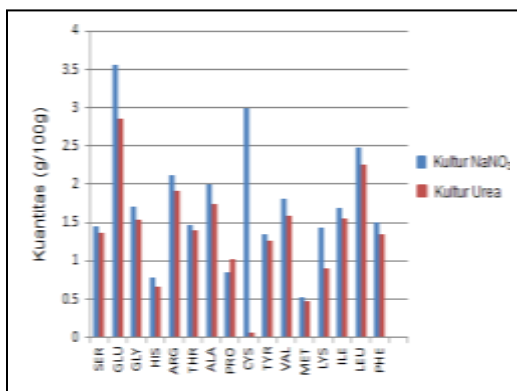
Sumber Nitrogen	Biomasa	Protein	Persentase
Urea	1,23 gr	0,768 gr	62%
NaNO_3	1,23 gr	0,146 gr	11,86 %

Gambar 5. Persentase protein dalam sampel *Spirulina platensis* kultur NaNO_3 dan kultur urea

Mikroalga memiliki batas penyerapan nitrogen, bila nitrogen yang ada pada media terlalu banyak maka pertumbuhan mikroalga akan terhambat atau disebut juga keracunan amonium. Terhambatnya pertumbuhan mikroalga juga dapat menghambat proses biosintesis protein didalam sel, oleh karena itu pada penelitian ini konsentrasi nitrogen pada tiap sumber nitrogen disamakan dengan konsentrasi nitrogen pada sumber nitrogen dalam medium BBM.

3.4 Identifikasi Asam Amino

Hasil yang didapat dalam proses identifikasi asam amino pada sampel mikroalga *Spirulina platensis* kultur NaNO_3 dan kultur urea menggunakan Amino Acid Analyzer adalah sebagai berikut :



Gambar 6. Komposisi protein pada *Spirulina platensis* kultur NaNO_3 dan kultur Urea

Keterangan : ASP (As.Aspartat), SER (Serin), GLU (As.Glutamat), GLY (Glin), HIS (Histidin), ARG (Arginin), THR (Treonin), ALA (Alanin), PRO (Prolin), CYS (Sistein), TYR (Tyrosin), VAL (Valin), MET (Metionin), LYS (Lisin), ILE (Isoleusin), LEU (Leusin), PHE (Fenilalanin)

Berdasarkan data diatas asam amino tertinggi yang dikandung oleh biomasa kultur NaNO_3 dan biomasa kultur urea yaitu asam glutamat, masing-masing sebanyak 3,56 g dan 2,86 g dalam 100 g sampel. Jumlah asam amino sistein pada biomasa kultur NaNO_3 sangat jauh lebih tinggi daripada jumlah sistein pada biomasa kultur urea. Hal ini bergantung pada jumlah metionin dan serin dalam tiap kultur tersebut.

Dalam biosintesis sistein, metionin menyumbangkan atom sulfur dan serin menyumbangkan kerangka karbon. Pada biomasa kultur NaNO_3 jumlah metionin dan serin lebih besar jika dibandingkan dengan jumlah pada kultur urea. Hal ini yang menyebabkan jumlah sistein pada

biomasa kultur NaNO_3 jauh lebih tinggi daripada biomasa kultur urea.

Asam amino esensial yang dihasilkan oleh kedua biomasa yaitu histidin, treonin, valin, metionin, lisin, isoleusin, dan fenilalanin. Secara keseluruhan kadar asam amino yang dikandung oleh biomasa kultur NaNO_3 lebih tinggi bila dibandingkan dengan biomasa kultur urea. Hal ini disebabkan oleh kadar prekursor awal, yaitu asam glutamat pada biomasa kultur NaNO_3 lebih besar daripada kultur urea. Semua asam amino berasal dari senyawa intermediet Glikolisis, siklus asam sitrat, dan pentose phosphat pathway. Nitrogen masuk ke dalam metabolisme melalui proses Asimilasi amonium membentuk Glutamat dan Glutamin^[13].

IV. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar protein tertinggi didapat pada biomasa *Spirulina platensis* kultur urea, yaitu sebesar 768,17 ppm atau 62% dari berat kering selnya. Kadar protein pada NaNO_3 yang didapatkan sangat kecil yaitu 146,45 ppm atau 11,86% dari berat kering sel nya. Perbedaan sumber nitrogen mempengaruhi kadar protein di dalam sel *Spirulina platensis*. Semakin banyak ion amonium yang mampu diubah sel maka protein yang dihasilkan meningkat. Asam Amino Esensial yang terkandung didalam sampel yaitu histidin, treonin, valin, metionin, lisin, isoleusin, dan fenilalanin. Biomasa kultur NaNO_3 menghasilkan kadar asam amino yang lebih tinggi daripada biomasa kultur urea.

V. UcapanTerimaKasih

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada analis laboratorium biokimia dan bioteknologi Universitas Andalas.

Referensi

1. Almatsier, S., **2004**, Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama, 77-104
2. Isnansetyo, A., Kurniastuti, **1995**, Teknik Kultur Phytoplankton & Zooplankton – Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut, Kanisius (Anggota IKAPI), 13-49
3. Pelchar, Jr., dkk, **1986**, Dasar-dasar Mikrobiologi 1, Universitas Indonesia (UI-Press), 27-31
4. Flynn, Kevin J., Ian B., **1986**, Nitrogen sources for the growth of marine microalgae: role of dissolved free amino acids, Marine Ecology-Progress series, vol. 34, 281-304
5. Gershwin, M. E., Amha B., **2007**, *Spirulina* in Human Nutrition and Health, CRC press, Taylor & Francis group, 3-22
6. Fragakis, Allison S., Cynthia T., **2007**, The Health Professional Guide to Popular Dietary Supplements 3rd edition, American Dietetic Association, 499-503
7. Ali, S., Arabi M., **2012**, *Spirulina* – An Overview, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, vol. 4, issue 3, 9-15
8. Bradford, Marion M., **1976**, A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, Analytical Biochemistry, vol. 72, 248-254
9. Lee, Y., Chen, W., Shen, H., Han, D., Lie, Y., Jones, H. D. T., Timlin, J. A., Hu, Q., **2013**, Basic Culturing and Analytical Measurement Techniques, Amos Richmond and Qiang Hu, Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition, Wiley-Blackwell, West Sussex, UK, 37-68
10. Amala, K., Ramanathan, **2013**, Comparative studies on production of *Spirulina platensis* on the standard and newly formulated alternative medium, Science Park, vol. 1, 1-10
11. Devi, M. Anusuya, G. Subbulakshmi, K. Madhavi Devi, L. V. Venkataraman, **1981**, Studies on the proteins of mass-cultivated blue-green algae (*Spirulina platensis*), J. Agric. Food Chem, vol. 29, 522-525
12. Gerde, Jose A., Tong Wang, Linxing Yao, Stephanie Jung, Lawrence A. Jonhson, Buddhi Lamsal, **2013**, Optimizing protein isolation from defatted and non-defatted *Nannochloropsis* microalgae biomass, Elsevier Algal Research, vol. 2, 145-153
13. Sitompul, Saulina, **1997**, Komposisi Asam-asam Amino dari Biji-bijian dan Kacang-kacangan, Lokakarya Fungsional Non Peneliti, Balai Penelitian Ternak Ciawi, 1-5
14. Wher, John D., Robert G. Sheath, **2003**, Freshwater Algae of North America : Ecology and Classification, Elsevier science (USA), 141
15. Wijanarko, Anondho, **2011**, Effect of the Presence of Substituted Urea and also Ammonia as Nitrogen Source in Cultivated Medium on *Chlorella's* Lipid Content, Intech : Progress in Biomass and Bioenergy Production, 1-11
16. Leftley, J.W., Syrett, P.J., **1973**, Urease and ATP: Urea Amidolyase Activity in Unicellular Algae, Journal of General Microbiology, vol. 77, 109-115

KONTROL PEMBENTUKAN NANOPARTIKEL PERAK MELALUI CAPPING AGENT DENGAN BANTUAN BIOREDUKTOR EKSTRAK DAUN GAMBIR (*Uncaria Gambir Roxb*)

Mia Luthfia Desna, Diana Vanda Wellia, dan Syukri Arief*

Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

*e-mail: syukriarief@gmail.com

Abstract

Synthesis of silver nanoparticles as a part of the development of nanotechnology has been successfully carried out by chemical reduction method using bioreduktor of gambier's leaf extract. The process of biosynthetic conducted at various various conditions showed that the best conditions for the synthesis of silver nanoparticles is AgNO_3 0.01 M ($T_{\text{reaksi}}=25^\circ\text{C}$). The use of 1% Polivinil alkohol (PVA) as a capping agent had produced silver nanoparticles with high colloidal stability. Silver nanoparticles was floured grayish and shiny. The results of *X-Ray Diffraction* (XRD) displayed the same peak pattern obtained with standard silver metal. The Ag crystallite size for concentration of AgNO_3 0.1 M was larger than AgNO_3 0.01 M. *Transmission Electron Microscope* (TEM) showed that particle size of Ag was about 59 nm from AgNO_3 0.1 M, while about 22 nm of AgNO_3 0.01 M.

Keywords: Silver nanoparticle, Bioreduktor, Capping agent, XRD, TEM

I. Pendahuluan

Pada saat ini, teknologi yang sedang berkembang adalah teknologi berbasis nano atau sering disebut dengan nanoteknologi. Nanoteknologi adalah ilmu dan rekayasa dalam penciptaan material, struktur fungsional, maupun piranti dalam skala nanometer. Material berukuran nanometer memiliki sejumlah sifat kimia dan fisika yang lebih unggul dari material berukuran besar.

Nanopartikel merupakan bagian dari nanoteknologi yang sangat populer dan semakin pesat perkembangannya sejak beberapa tahun terakhir. Ukuran partikel berukuran nano adalah sekitar 1-100 nm. Nanopartikel tersebut dapat berupa logam mulia seperti emas, platina, perak, oksida logam, semikonduktor, polimer, material

karbon, senyawa organik, dan biologi seperti DNA, protein, atau enzim.¹ Nanopartikel yang banyak menarik perhatian adalah nanopartikel logam karena aplikasinya yang luas, antara lain di bidang optik, elektronik, industri, kesehatan, biomedis, katalis, tekstil dan lingkungan.

Pemilihan nanopartikel perak sebagai fokus peneliti adalah karena aplikasinya yang luas serta kemampuannya dalam mengubah sifat fisik, optik, dan sifat elektronik suatu komponen. Selain itu, penggunaan nanopartikel perak telah dikenal sebagai antimikroba dan aplikasi lain dalam lapisan cat antimikroba, tekstil, pengolahan air, dan peralatan medis serta kemampuannya tereduksi berdasarkan kedudukannya dalam sistem berkala unsur.

Secara garis besar, sintesis nanopartikel perak dapat dilakukan dengan metode *top-down* (fisika) dan metode *bottom-up* (kimia). Sintesis dengan metode tersebut menimbulkan dampak yang tidak baik bagi lingkungan sekitar dan makhluk hidup karena menggunakan bahan kimia yang berbahaya dan cukup reaktif serta menggunakan peralatan yang mahal. Oleh karena itu, dari berbagai metode yang telah dikembangkan oleh para ahli, bermunculan metode baru untuk sintesis nanopartikel yang dikenal dengan *green nanotechnology* berbasis tumbuhan sebagai bioreduktor.

Indonesia sebagai negara dengan sumber daya alam dan keanekaragaman hayati memiliki potensi untuk penelitian yang terkait dengan eksplorasi pemanfaatan tumbuhan sebagai agen dalam biosintesis nanopartikel. Beberapa jenis tumbuhan yang telah dipublikasikan sebagai reagen biosintesis adalah *Eucalyptus hybrida*², *Artocarpus heterophyllus*³, *Camellia Sinensis*⁴, dan *Mollugo nudicaulis*.⁵ Penggunaan *A. indica* untuk biosintesis nanopartikel perak telah dilakukan oleh Shankar dkk.⁶ Shankar memperoleh hasil bahwa proses reduksi dimulai sekitar 2 sampai 4 jam setelah penambahan ekstrak.

Untuk menghasilkan partikel perak dengan kualitas nano yang baik maka diperlukan penggunaan *capping agent* dengan tujuan untuk mencegah terbentuknya aglomerasi koloid nanopartikel perak.

Dalam penelitian ini, akan dilakukan pengamatan terhadap sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Ekstrak gambir mengandung katekin, yaitu suatu senyawa polifenol yang digunakan karena memiliki kemampuan sebagai zat pereduksi. Perak nitrat akan direduksi oleh ekstrak daun gambir sehingga lebih ramah lingkungan dan ekonomis. Kemampuan gambir sebagai bioreduktor untuk sintesis nanopartikel perak sebelumnya telah dibuktikan dalam penelitian pendahuluan oleh Rahmah, W.⁷ Namun, belum didapatkan penjelasan yang

lengkap tentang kondisi optimum serta peranan gambir sebagai bioreduktor. Kondisi optimum biosintesis nanopartikel perak dilihat dengan melakukan variasi suhu sistesis dan penggunaan *capping agent* dalam pembentukan nanopartikel perak. Kemudian, nanopartikel perak yang telah disintesis akan dikarakterisasi dengan XRD, dan TEM.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.), Perak Nitrat (Brataco, 99,98%), Polivinil Alkohol (PVA) (Brataco), dan *aquadest*. Pereduksi alami yang digunakan adalah daun gambir yang diambil dari daerah Payakumbuh.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan gelas, kertas saring Whatman, aluminium foil, piknometer, timbangan analitik, pipet tetes, corong, pH meter, *hot plate stirrer*, *magnetic bar*, sentrifus, X-Ray Diffraction (XRD; Phillips X'pert Powder PAN alytical), Transmission Electron Microscope (TEM; JEOL JEM 1400).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Preparasi Ekstrak Daun Gambir

Tumbuhan yang digunakan untuk proses *green synthesis* yaitu Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Bagian tumbuhan yang digunakan yaitu daun dalam kondisi segar. Untuk preparasi ekstraknya, daun gambir dikeringanginkan dalam suatu ruangan yang terlindungi dari sinar matahari langsung. Selanjutnya daun gambir dihaluskan. Serbuk yang didapatkan kemudian disimpan dalam wadah yang bersih dan terlindung dari cahaya untuk mencegah terjadinya kerusakan dan penurunan mutu.

Ekstrak tumbuhan diperoleh dengan cara menimbang serbuk sebanyak 10 g kemudian ditambah 100 mL *aquadest* dan direbus pada suhu didihnya selama ± 1 jam. Setelah itu, larutan disaring dengan kertas saring

Whatman dan diambil filtratnya. Filtrat yang dihasilkan digunakan sebagai agen reduktor.

2.2.2. Preparasi Capping Agent

Capping agent yang digunakan yaitu Polivinil Alkohol (PVA). Larutan PVA 1% (b/v) dibuat dengan penimbangan PVA sebanyak 3 gram kemudian dilarutkan dalam 50 mL *aquadest* dan diaduk menggunakan pengaduk magnetik. Larutan dipanaskan hingga suhu 80°C dan seluruh PVA terlarut sempurna. Kemudian didinginkan pada suhu kamar dan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan volume dicukupkan sampai garis batas.

2.2.3. Sintesis Nanopartikel Perak

Pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi nanopartikel perak dengan adanya *capping agent* dan nanopartikel perak tanpa adanya *capping agent*. Nanopartikel dengan adanya *capping agent*, dibuat dengan cara mencampurkan larutan AgNO_3 0,1 M dan 0,01 M dengan larutan PVA 1% (b/v) kemudian ditambahkan ekstrak daun gambir dengan rasio 1:1:1. Larutan *distir* selama 24 jam dan kontrol pada suhu 25°C, 4°C dan 70°C. Hal yang sama dilakukan untuk pembuatan nanopartikel perak tanpa *capping agent*. Selama proses sintesis, koloid nanopartikel perak dianalisis serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian endapan yang didapat dicuci menggunakan *aquadest* dan aseton. Endapan perak yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan peralatan XRD dan TEM.

III. Hasil dan Pembahasan

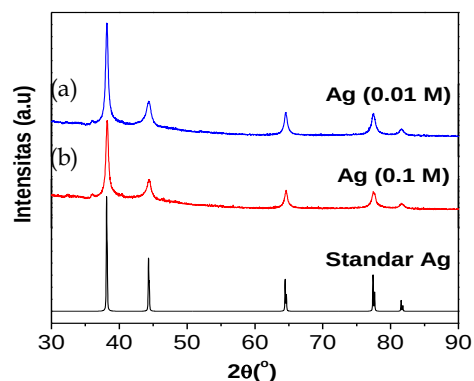
Terbentuknya nanopartikel secara umum ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi kuning hingga kecoklatan dari waktu ke waktu. Larutan campuran yang terdiri dari AgNO_3 dan ekstrak daun gambir mengalami perubahan warna dari jernih menjadi kuning muda setelah 15 menit. Selanjutnya, larutan campuran mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan setelah 24 jam, warna tersebut semakin pekat seiring bertambahnya waktu.

Menurut Handaya *dkk.*(2011), nanopartikel perak hasil preparasi berbentuk koloid dengan pengamatan warna koloid nanopartikel perak yang berbeda-beda, mulai dari kuning, transparan, atau krem atau abu-abu.⁸ Koloid nanopartikel perak memperlihatkan warna-warna yang berbeda berdasarkan pada absorpsi cahaya dan pancaran pada daerah cahaya tampak.

Kestabilan koloid nanopartikel dapat dikontrol dengan menambahkan Polivinil alkohol (PVA) sebagai *capping agent*. Dengan ditambahkan PVA, koloid menjadi lebih stabil dan partikel akan tetap berukuran nano. Kestabilan koloid nanopartikel dapat dilihat melalui pengukuran absorban menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.1. X-Ray Diffraction (XRD)

Analisis XRD pada serbuk nanopartikel perak hasil sintesis dilakukan untuk mengetahui struktur dan ukuran kristal dari nanopartikel yang didapatkan. Gambar di bawah merupakan hasil XRD dari nanokristal perak dengan konsentrasi AgNO_3 0,1 M dan 0,01 M menggunakan pereduksi alami ekstrak daun gambir.



Gambar 5. Analisis XRD dari nanokristal perak dengan konsentrasi AgNO_3 (a) 0,1 M dan (b) 0,01 M.

Gambar 5(a) merupakan pola XRD dari Ag yang telah disintesis dari larutan AgNO_3 0.1 M menggunakan pereduksi alami ekstrak daun gambir. Dapat dilihat bahwa telah terbentuk nanokristal Ag yang ditandai

dengan munculnya puncak pada 2θ : $38,17^\circ$ (111); $44,37^\circ$ (200); $64,60^\circ$ (220); $77,44^\circ$ (311); $81,65^\circ$ (222); $97,80^\circ$ (400) dengan struktur *face center cubic* (fcc) yang sesuai dengan puncak dari Ag dengan nomor ICDD (*International Centre for Diffraction Data* 01-087-0597), dengan ukuran kristal 69 nm.

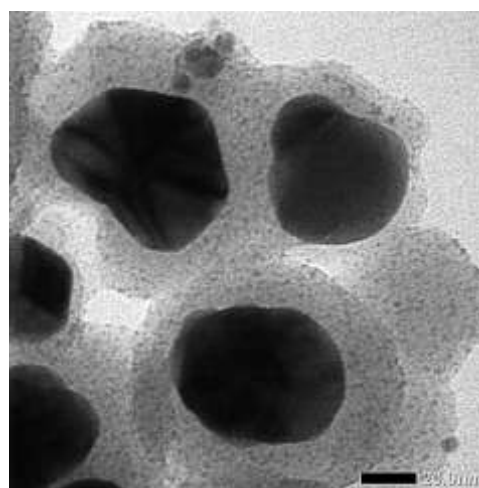
Gambar 5(b) merupakan pola XRD dari Ag yang telah disintesis dari larutan AgNO_3 0.01 M menggunakan pereduksi alami ekstrak daun gambir. Dapat dilihat bahwa telah terbentuk nanokristal Ag yang ditandai dengan munculnya puncak pada 2θ : $38,16^\circ$ (111); $44,32^\circ$ (200); $64,51^\circ$ (220); $77,41^\circ$ (311); $81,54^\circ$ (222); $98,02^\circ$ (400) dengan struktur *face center cubic* (fcc) yang sesuai dengan puncak dari Ag dengan nomor ICDD (*International Centre for Diffraction Data* 01-017-4613), dengan ukuran kristal 28 nm.

Berdasarkan analisis XRD, perbedaan konsentrasi AgNO_3 dalam biosintesis mempengaruhi ukuran kristal Ag yang diperoleh. Ajitha dkk. telah mempelajari pengaruh konsentrasi AgNO_3 terhadap pertumbuhan ukuran nanokristal. Mereka menemukan bahwa dengan konsentrasi yang semakin tinggi maka ukuran partikel juga semakin besar. Hal ini dibuktikan dari ukuran kristal yang didapat sekitar 24-45 nm dengan kenaikan konsentrasi AgNO_3 .⁹

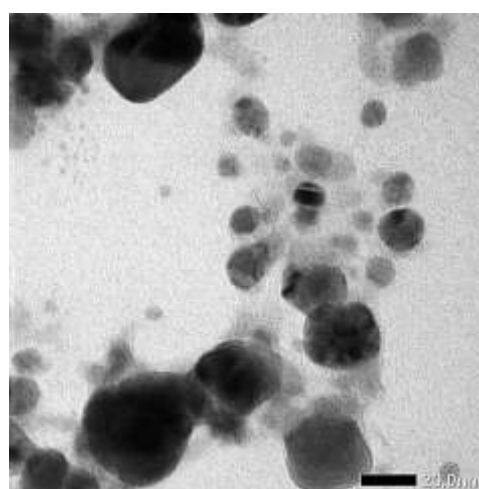
3.4. Transmission Electron Microscope (TEM)

Analisis TEM digunakan untuk melihat morfologi, struktur dan ukuran nanopartikel perak. Sampel yang digunakan untuk karakterisasi TEM yaitu serbuk nanopartikel perak dengan konsentrasi AgNO_3 0.1 M dan 0.01 M. Hasil analisis TEM dapat dilihat pada gambar 6.

Hasil analisis TEM dapat dilihat pada Gambar 6(a) dan 6(b) yang menunjukkan bahwa nanopartikel perak berbentuk sferikal (bulat).



(a)



(b)

Gambar 6. Analisis TEM dari nanokristal perak dengan konsentrasi AgNO_3 (a) 0.1 M dan (b) 0.01 M.

Perbedaan konsentrasi AgNO_3 yang digunakan akan menghasilkan partikel dengan ukuran yang berbeda pula. Ukuran partikel yang didapatkan dari konsentrasi AgNO_3 0,1 M adalah sekitar 59 nm, sedangkan untuk konsentrasi AgNO_3 0.01 M sekitar 22 nm. Semakin besar konsentrasi AgNO_3 yang digunakan dalam sintesis maka semakin banyak jumlah Ag^+ yang harus direduksi. Hal ini menyebabkan berkurangnya fungsi ekstrak sebagai reduktor sehingga kemungkinan terjadi aglomerasi (penggabungan) lebih besar dan akibatnya distribusi ukuran Ag nanopartikel menjadi semakin besar.

Zienlinska dkk., juga telah membuktikan bahwa semakin besar jumlah ion perak dalam larutan maka ukuran partikel yang didapatkan juga semakin besar. Warna yang dihasilkan juga akan mengalami perbedaan tergantung pada kekuatan dari reduktor.¹⁰

IV. Kesimpulan

Dalam penelitian ini, konsentrasi terkecil AgNO_3 0.01 M menghasilkan kristal perak dengan ukuran terkecil yaitu 28 nm dan memiliki stabilitas koloid yang tinggi. Stabilitas koloid tertinggi dihasilkan dari koloid nanopartikel perak yang ditambahkan PVA 1% dengan suhu sintesis 25°C . Hasil XRD memperlihatkan bahwa pola puncak yang dihasilkan merupakan Ag murni. Dari hasil TEM dapat dilihat bentuk dan morfologi dari nanopartikel perak berupa sperikal yang sedikit mengalami aglomerasi, dengan ukuran partikel terkecil adalah pada konsentrasi AgNO_3 0.01 M, yaitu sekitar 22 nm.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dikti yang telah membiayai penelitian ini melalui PKM-P dan kepada analis laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Referensi

1. Bakir, **2011**, Pengembangan Biosintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Air Rebusan Daun Bisbul (*Diospyros Blancoi*) Untuk Deteksi Ion Tembaga (II) dengan Metode Kolorimetri, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.
2. Donda, M.R., Kudle, K.R., Alwala, J., Miryala, A., Sreedhar, B., dan Rudra, P., **2013**, Green Synthesis of Nanosilver Particles From Extract of *Eucalyptus Hybrid*, *Journal of Current Science*, (7), 1-8.
3. Thirumurugan, A., Tomy, N.A., Ganesh, R.J., Gobikrishnan, S., **2010**, Biological Reduction of Silver Nanoparticles Using Plant Leaf Extracts And Its Effect on Increased Antimicrobial Activity Against Clinically Isolated Organism, *Der Pharma Chemica*, 2(6), 279-284.
4. Loo, Y.Y., Chieng, B.W., Nishibuchi, M., Radu, S., **2012**, Synthesis of Silver Nanoparticles by Using Tea Leaf Extract From *Camellia Sinensis*, *Journal of Nanomedicine*, (7), 4263-4267.
5. Anarkali, J, Raj, Vijayanti, D., Rajathi, K., Sridhar, S., **2012**, Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by Using *Mollugo Nudicaulis* Extract and Their Antibacterial Activity, *Academical Journal*, 4(3), 1436.
6. Shankar, S.S, Rai, A., Ahmad, A., dan Sastry, M., **2004**, Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth, *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(4), 496-502.
7. Rahmah, W., **2014**, Sintesis Nanokristal Perak Menggunakan Pereduksi Alami. *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
8. Handaya, A., Laksmono, J.A., dan Haryono, A., **2011**, Preparasi koloid nanosilver menggunakan stabilizer polivinil alkohol dan aplikasinya sebagai antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *Jurnal Kimia Indonesia*.
9. Ajitha, B., Divya, A., Harish, G. S., Sreedhara, R. P., **2013**, The Influence of Silver Precursor Concentration on Size of Silver Nanoparticles Grown by Soft Chemical Route, *Research Journal of Physical Sciences*, 1(17), 11- 14.
10. Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M., dan Hupka, J., **2009**, Preparation of Silver Nanoparticles with Controlled Particle Size. *Procedia Chemistry*, (1), 1560-1566.

STUDI PENDAHULUAN PENENTUAN KANDUNGAN PLASTIK YANG TERDAPAT DALAM PISANG GORENG MENGGUNAKAN *TEXTURE ANALYZER* DAN MINYAK GORENG MENGGUNAKAN GC-MS

Mardiana Samosir, Yulizar Yusuf, dan Zamzibar Zuki

Laboratorium Analisis Terapan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: yulizaryusufch@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The preliminary study about the content of the plastic in fried banana and cooking oil that was assumed containing plastic have been done, which using texture analyzer and GC-MS. On the test of the texture analyzer, can be seen that there were differences between fried banana that contained plastic compared to fried banana that contained no plastic. This is proved by 4 times of the repetition of the hardness. Where the hardness of fried banana which contained plastic is bigger than the fried banana which has no plastic, the point are 46,76 and 41,08 ; 59,35 and 31,99 ; 36,86 and 32,23 ; 22,25 and 26,79 in N/cm². While the result of the chromatogram, the chemical compounds presented in the used of cooking oil contained metyl ester squalene, methanol squalene carbinol, tetracosahexaene-hexamethyl squalene.

Keywords: Cooking oil, *Texture Analyzer*, Gas Chromatography-Mass Spectrometry.

I. Pendahuluan

Kebiasaan yang baik merupakan dambaan dari setiap umat manusia. Usaha untuk meningkatkan kesehatan terus menerus diupayakan orang dengan berbagai cara. Kemajuan teknologi sistem informasi dalam era globalisasi juga banyak membantu masyarakat dalam menyadari perlunya mengkonsumsi makanan yang menyehatkan. Makanan yang menyehatkan tidak boleh mengandung bahan-bahan atau cemaran yang dapat membahayakan kesehatan termasuk Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang terlarang dan mikroba penyebab penyakit atau toksinya, tetapi sebaliknya mengandung senyawa-senyawa yang mengandung kesehatan.

Minyak goreng merupakan salah satu kebutuhan pokok manusia sebagai alat pengolah bahan-bahan makanan yang

biasanya digunakan untuk menggoreng. Minyak goreng nabati biasa diproduksi dari kelapa sawit, kelapa, atau jagung. Konsumsi minyak goreng masyarakat terbagi dalam dua kategori yaitu minyak goreng curah dan minyak goreng kemasan.[1]

Minyak goreng didefinisikan Badan Pengembangan dan Pembinaan Bahasa adalah minyak yang dipakai untuk menggoreng, seperti minyak kelapa, minyak jagung, dan minyak kacang.

Menurut Badan Standarisasi Nasional (BSN), minyak goreng didefinisikan sebagai minyak yang diperoleh dengan cara memurnikan minyak nabati. Minyak nabati merupakan minyak yang diperoleh dari sereal (jagung, gandum, beras, dan lain lain), kacang-kacangan (kacang kedelai, kacang tanah, dan lain- lain), palma-palmaan (kelapa dan kelapa sawit), dan biji-

bijian (biji bunga matahari, biji wijen, biji tengkawang, biji kakao, dan lain- lain). Tidak semua minyak nabati dapat dipakai untuk menggoreng. Menurut Keraten, minyak yang termasuk golongan setelah mengering (*semi drying oil*) misalnya minyak biji kapas, minyak kedelai, dan minyak biji bunga matahari tidak dapat digunakan sebagai minyak goreng. Hal ini disebabkan karena jika minyak tersebut kontak dengan udara pada suhu tinggi akan mudah teroksidasi sehingga berbau tengik. Minyak yang dipakai menggoreng adalah minyak yang tergolong dalam kelompok *non drying oil*, yaitu minyak yang tidak akan membentuk lapisan keras bila dibiarkan mengering di udara, contohnya adalah minyak sawit.[2].

Disamping itu, Ketengikan adalah perubahan kimiawi yang menyebabkan minyak menjadi tengik dan rasanya tidak enak, berdasarkan reaksi kimia yang terjadi pada minyak, dikenal ada dua jenis ketengikan yaitu ketengikan oksidatif dan hidrolitik.. Pada penelitian ini minyak goreng diukur dengan menggunakan GC-MS. *Gas Chromatography* berfungsi sebagai alat pemisah berbagai campuran komponen dalam sampel sedangkan *Mass Spectrometry* berfungsi untuk mendeteksi masing masing komponen yang telah dipisahkan pada *Gas Chromatography* [3].

Gas Chromatography merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam- berjam untuk campuran yang mengandung 500-1000 komponen. Komponen campuran dapat didefinisikan dengan waktu tambat (waktu retensi) yang khas pada kondisi yang tepat. Waktu tambat adalah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa bertahan dalam kolom. Bagian utama dari kromatografi gas adalah gas pembawa, sistem injeksi, kolom, fase diam, suhu, dan detector[4,5,6,7]

Mass Spectrometry menembaki bahan yang sedang diteliti dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spectrum sibir-sibir (fragmen) ion positif. Catatan ini disebut spectrum massa. Terpisahnya sibir- sibir ion positif didasarkan pada massanya (lebih tepat, massa dibagi muatan tetapi kebanyakan ion bermuatan tunggal [8].

Tidak menggunakan radiasi menggunakan elektromagnetik yang berinteraksi dengan analit, tetapi teknik analisis ini disebut juga teknik spektroskopi, karena memberikan spectrum rasio massa terhadap muatan dari ion molekul dan ion fragmen molekul yang terbentuk pada ionisasi dengan benturan elektron. Untuk keperluan identifikasi dan penentuan struktur senyawa kimia informasi terpenting yang dibutuhkan adalah berat molekul. *Mass spectrometry* adalah satu- satunya teknik analisis yang dapat memberikan informasi tersebut dengan akurasi tinggi. Pembentukan ion molekul dan ion fragmen molekul tergantung kepada ionisasi yang dilakukan. Pada ionisasi dengan benturan elektron menggunakan voltase filament pembangkit elektron 7 sampai 15 V, dapat diharapkan tidak terjadi fragmen dan tidak terbentuk ion yang lebih berat dari ion molekul. Ion terberat, kecuali yang disebabkan oleh pengaruh isotop adalah berat molekul nominal jika menggunakan spectrometer massa resolusi rendah dan berat molekul jika menggunakan instrument dengan resolusi tinggi [9].

Elektron yang dibangkitkan dengan potensial filament 70 V, memberikan elektron dengan energi cukup besar untuk pembentukan ion fragmen molekul yang rasio m/z -nya khas untuk molekul senyawa yang dianalisis. Sistem ionisasi dan pemisahan molekul berdasarkan rasio m/z -nya terjadi di dalam *Mass Spectrometry* pada tekanan 0,005 torr dan temperature $200 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$.

Keuntungan yang besar dari *Mass Spectrometry* adalah sensitivitas yang lebih

besar dari teknik analisis lainnya, ukuran sampel analisis yang relatif kecil dan kespesifikan yang diperlukan untuk identifikasi senyawa, dan konfirmasi ada/tidak adanya senyawa yang dicurigai[10].

Diduga pada sampel minyak goreng ini mengandung plastik. Plastik adalah polimer rantai-panjang dari atom yang mengikat satu samalain. Rantai ini membentuk banyak unit molekul berulang, atau "monomer". Istilah plastik mencakup produk polimerisasi sintetik atau semi-sintetik, namun ada beberapa polimer alami yang termasuk plastik. Plastik terbentuk dari kondensasi organik atau penambahan polimer dan bisa juga terdiri dari zat lain untuk meningkatkan performa atau ekonomi. Plastik berisi beberapa aditif yang diperlukan untuk memperbaiki sifat-sifat fisik kimia plastik itu sendiri. Dapat diketahui bahwa, pada pisang goreng yang biasa dijual oleh pedagang gorengan dilakukan tindak lanjut lebih dengan cara melakukan uji daya tekan pada pisang tersebut.[11,12,13,14,15]

Selain itu, pisang goreng yang akan dijadikan sampel, diukur daya tekan nya dengan menggunakan texture analyzer. Dimana biasanya alat ini digunakan untuk mengukur daya tekan pada buah.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan , peralatan dan instrumentasi

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu pisang batu ,sampel minyak goreng baru merck sania, minyak goreng bekas penggorengan dan sampel minyak goreng bekas yang diambil dari beberapa pedagang gorengan dan plastik, pelarut organik (n-heksana).

Peralatan yang digunakan yaitu erlenmeyer, beberapa botol vial ukuran 5 ml. Sedangkan peralatan instrumentasi yang digunakan yaitu seperangkat GC- MS jenis kolom RTx 5MS dan seperangkat texture analyzer brookfield.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Pengambilan sampel

Sampel minyak goreng bekas diambil dari beberapa pedagang gorengan. Selain itu dilakukan juga uji perbandingan dengan sampel minyak baru dan minyak bekas penggorengan pisang goreng yang dilakukan sendiri.

2.2.2. Perlakuan daya tekan pada pisang goreng

Pada percobaan ini, pisang goreng tersebut dimasak dengan dua jenis minyak yang berbeda. Dimana minyak tersebut diberi plastik dan satu lagi tidak diberi plastik. Kemudian setelah pisang tersebut digoreng, dilakukan uji daya tekan pisang tersebut dengan menggunakan texture analyzer.

2.2.3. Menentukan komponen kimia yang terdapat dalam minyak secara Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Pada percobaan ini minyak goreng hasil dari menggoreng pisang diambil untuk dijadikan sampel, kemudian sampel minyak goreng lain nya diambil dari beberapa pedagang gorengan. Dimasukkan kedalam botol vial, dan diberi kode sampel, kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatera Barat untuk analisis GC – MS.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Perlakuan daya tekan pada pisang goreng

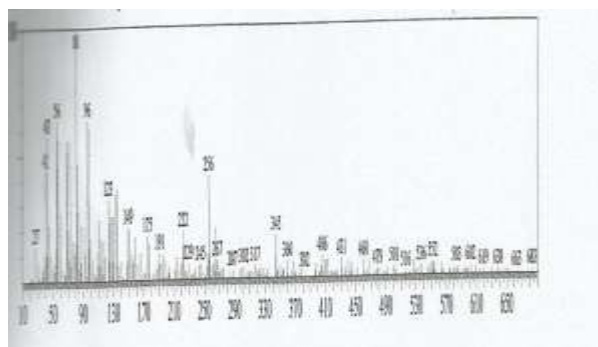
Berdasarkan dari hasil data analisis kekerasan diatas, dapat kita lihat bahwa pengaruh penambahan plastik yang dimasukkan ke dalam minyak sangat berdampak pada sampel pisang. Hal ini dapat dilihat dari daya tekan pisang tersebut. Pisang yang dimasak dengan menggunakan minyak plastik memiliki daya tekan yang lebih besar dibandingkan dengan pisang yang dimasak dengan minyak yang tanpa menggunakan plastik dapat dilihat pada Tabel 1. Dapat diasumsikan bahwa plastik yang menempel pada pisang tersebut secara tidak langsung melindungi keutuhan gurih dari pisang tersebut, sehingga pisang goreng yang walaupun masih dingin tetap terasa gurih.

Tabel 1. Data analisis kekerasan pada pisang goreng

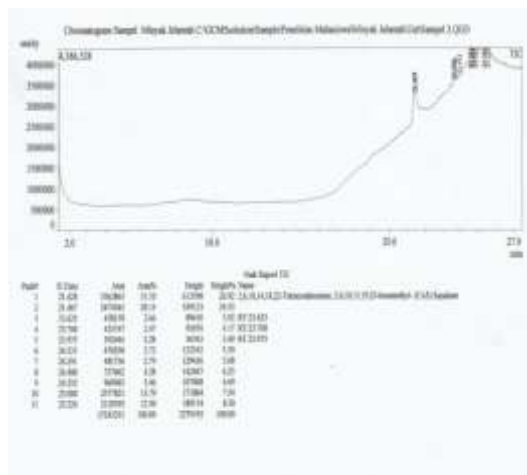
data analisis kekerasan		
no	kode	hardness (N/cm ²)
1	pisang 1 + minyak plastik	46,76
2	pisang 1 + tanpa minyak plastik	41,08
3	pisang 2 + minyak plastik	59,35
4	Pisang 2 + tanpa minyak plastik	31,99
5	pisang 3 + minyak plastik	36,86
6	Pisang 3 + tanpa minyak plastik	32,23
7	pisang 4 + minyak plastik	26,79
8	pisang 4 + tanpa minyak plastik	22,25

3.2. Menentukan komponen kimia yang terdapat dalam minyak secara Gas Chromatography Mass Spectrometry

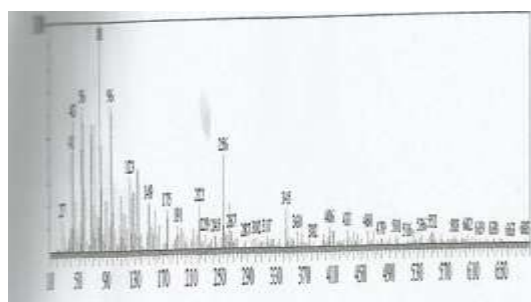
Dari hasil kromatogram GC-MS, dapat dilihat bahwa ada perbedaan antara sampel yang tidak diberi plastik dengan sampel yang diberi perlakuan plastik. Hasil ini dapat dilihat pada gambar 1 dan 2 dan gambar 3 dan 4. Kromatogram ini dapat dijadikan sebagai perbandingan. Sehingga dengan demikian, sampel yang diambil dari penjual gorengan dapat diidentifikasi sampel tersebut mengandung plastik atau tidak. Hasil ini dapat dilihat pada gambar 5 dan 6. Ada kromatogram yang sama dengan hasil kromatogram gambar 1 dan 2. Jadi dikatakan bahwa sampel yang diambil dari penjual gorengan tersebut mengandung plastik.



tersebut. Hal ini dapat dikatakan bahwa sampel tersebut tidak mengandung polimer senyawa plastik.



Gambar 4. Sampel yang diambil dari pedagang gorengan diuji dengan Gas Chromatography



Gambar 6. Sampel yang diambil dari pedagang gorengan diuji dengan Mass spectrometry

Hasil kromatogram diatas hampir sama dengan hasil kromatogram pada Gambar 4.2.1(a dan b). Sehingga dapat dikatakan bahwa sampel yang diambil dari pedagang gorengan mengandung plastik.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh daya tekan terhadap perlakuan sampel pisang goreng yang diberi plastik dengan yang tidak diberi plastik. Dari hasil kromatogram GC- MS dapat terlihat jelas ada nya senyawa-senyawa yang terdapat pada minyak goreng

yang diberi plastik seperti : metyl ester squalene, methanol squalene carbinol, tetracosahexaene- hexamethyl squalene.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analisis laboratorium analisis Terapan jurusan Kimia Universitas Andalas dan analis Balai Laboratorium Kesehatan Masyarakat Provinsi Sumatera Barat.

Referensi

1. Sari, A. R., **2013**, Screening Kandungan PLastik Pada Minyak Goreng yang terdapat pada Gorengan di Jati Padang, *Skripsi Sarjana Kedokteran, Universitas Andalas*.
2. Wahyuni, D., **2010**, Zat-Zat Berbahaya yang Terkandung Dalam Makanan, *Universitas PGRI, Yogyakarta*.
3. Agusta, A., **2000**, Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika, *Penerbit ITB, Bandung*.
4. Eaton, D. C., **1989**, Laboratory Investigations in Organic Chemistry, *USA: McGraw-Hill, 152-157*.
5. Gritter, R. J., d **1991**, Pengantar Kromatografi Terbitan Kedua, *Penerbit ITB. Bandung*.
6. Nair, Mc N., and Bonelli, **1988**, Dasar-Dasar Kromatografi Gas.
7. Strayer, D., **1750**, Food Fats and Oils. *Ninth Eddition. Institute of Shortening and Edible Oils, Inc. New York Avenue, NW, Washington, DC*.
8. Husni, A., **2007**, Pemucatan Minyak Sawit Curah Menggunakan Mineral Clay Kuning Serta Campuran Pozzolan dan Silika. *Skripsi Sarjana Kimia, Universitas Andalas*.
9. Pakpahan, J. F., **2013**. Pengurangan FFA dan warna dari Minyak Jelantah Dengan Adsorben Serabut Kelapa dan Jerami. *Jurnal Teknik Kimia USU. 2 (1), 33-35*.
10. Aminah, R., **2010**. Bilangan Peroksida Minyak Goreng Curah dan Sifat Organoleptik Tempe pada Pengulangan Penggorengan. *Program Studi Teknologi Pangan Fakultas. Ilmu*

- Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah. Semarang.*
11. Supriyanto, A., **2014**. Analisa Buah Jeruk Menggunakan Texture Analyzer dan Chromameter. *Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika.*
 12. Puspitasari, R., dan Teti E., **2011**, Optimasi Saponifikasi Distilat Asam Lemak Minyak Sawit (DALMS) pada Separasi Fraksi Tidak Tersabunkan Mengandung Senyawa Bioaktif Multi Komponen, *Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya.*
 13. Rukmini, A., **2007**, Regenerasi Minyak Goreng Bekas Dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. *Program Studi Teknologi Pertanian. Universitas Widya Mataram, Yogyakarta.*
 14. Anthony C. W., dan Michael S. M., **1992**, Pengantar Kimia Organik dan Hayati, *Penerbit ITB, Bandung.*
 15. Pasaribu, N., **2004**, Minyak Buah Kelapa Sawit , *Jurusan Kimia. FMIPA : Universitas Sumatera Utara, Medan.*

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI AKTIF DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) TERHADAP UJI TOKSISITAS

Arrijal Mustakim, Afrizal, dan Mai Efdi

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

e-mail: afrizalitam@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation of secondary metabolite compound from tempuyung leaves (*Sonchus arvensis* L.) has been done. Toxicity assay of n-hexane extract, ethyl acetate extract, methanol extract and water extract has been tested, and methanol extract obtained high activity in toxicity assay using Brine Shrimps Lethality Test (BSLT) with LC_{50} values 403.645 mg/L. Isolation was continued by maceration using methanol solvent. Methanol extract was soluted with water and than was fractionated with n-hexane and has been continued by ethyl acetate solvent. Toxicity of each fractions was tested, and water fraction obtained highest activity with LC_{50} values 269.774 mg/L. Water fraction was freeze-dried and column chromatographed using silica gel as the stationary phase and n-hexane, ethyl acetate and methanol as the mobile phase with using *Step Gradient Polarity* (SGP) method. Isolated compound is white-brown solid around 3 mg which has single spot with some eluent comparisons on thin layer chromatography. The results of chemical characterization of isolated compound using spectroscopy method indicates that the isolated compound was included as coumarin group.

Keywords: *Sonchus arvensis* L., tempuyung leaves, coumarin, toxicity assay

I. Pendahuluan

Tumbuh-tumbuhan telah digunakan sebagai sumber obat dalam memelihara kesehatan, dan juga menjadi alternatif dalam pengobatan modern^[1]. Salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). Tumbuhan tempuyung biasanya digunakan sebagai obat batu saluran kencing, batu empedu, disentri, wasir, rematik, radang usus buntu (apendisitis), radang payudara (mastitis), bisul, darah tinggi (hipertensi), luka bakar, pendengaran kurang (tuli) dan memar. Tempuyung mengandung banyak senyawa yang menunjukkan aktifitas yang bermacam-macam, diantaranya mempunyai aktifitas

sebagai diuretik, antivirus, antihistamin, antihipertensi, bakteriostatik dan anti kanker^[2].

Tempuyung termasuk tanaman obat asli Indonesia dari famili Asteraceae^[2]. Kandungan kimia yang terdapat di dalam daun tempuyung adalah ion-ion mineral antara lain, silika, kalium, magnesium, natrium^[3]. Tumbuhan tempuyung mengandung senyawa organik seperti golongan flavonoid yaitu luteolin-7-O-glukosida, isocinarosida, luteolin-7-O-glukosida, linarin, kuersetin, isorhamnetin, chrysoeriol, isorhamnetin-7- β -D-glukosida, kuersetin-7- β -Dglukopyranosida, sonchosida, apigenin, luteolin-7-O-glucoside, acacetin, kaempferol, chrysoeriol,

luteolin, isorhamnetin, quercetin-3-O- α -L-rhamnoside, kaempferol-3,7- α -L-dirhamnoside. Selanjutnya dilaporkan juga bahwa tumbuhan tempuyung mengandung terpenoid, yaitu α -amyrin, β -amyrin, lupeol, taraxasterol (lactuserol), pseudo-taraxasterol dan disamping itu tumbuhan tempuyung juga mengandung senyawa kumarin (skepoletin), taraksasterol, manitol, inositol, serta asam fenolat (sinamat, kumarat dan vanilat), alkaloid dan saponin^[1, 4, 5, 6].

Salah satu metode yang digunakan untuk skrining awal terhadap senyawa aktif antikanker adalah uji toksisitas terhadap larva udang yang disebut Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* leach sebagai hewan uji, yang merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa anti kanker baru yang berasal dari tanaman^[12]. Senyawa aktif yang memiliki daya bioaktivitas tinggi diketahui berdasarkan nilai *Lethal Concentration-50* (LC₅₀), yaitu kadar yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat menyebabkan kematian sampai 50% hewan uji pada waktu tertentu. Berdasarkan LC₅₀ dapat diketahui tingkat aktivitas suatu senyawa. Suatu senyawa dikatakan memiliki sifat sitotoksik jika mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1.000 mg/L. Prinsip metode ini adalah uji toksisitas akut terhadap artemia dengan penentuan LC₅₀ setelah perlakuan 24 jam^[9]. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat dan cukup akurat^[8].

Beberapa hasil penelitian tentang tumbuhan tempuyung sudah dipublikasi, salah satunya yaitu tentang ekstrak etanolik daun tempuyung mampu menghambat aktivitas GST kelas umum (*alpha*, *mu*, dan *pi*) secara *in vitro* pada organ paru, usus halus, dan ginjal pada organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus* galur Sprague-Dawley) jantan^[7]. Pada penelitian yang lain juga dilaporkan isolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak etil

asetat tumbuhan tempuyung dengan uji antioksidan DPPH^[2]. Pada jurnal yang lainnya juga dilakukan isolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak *n*-heksana dan uji antibakteri menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *S.aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 50 ppm untuk semua ekstrak yang diujikan^[10]. Daun Tempuyung memiliki efek terhadap tekanan darah sistol dan diastol pada posisi duduk setelah minum daun tempuyung dengan rata-rata sebesar 107,24/72,58 mmHg^[11]. Senyawa Apigenin 7-O-Glukosida dari daun tempuyung telah diuji aktivitas antikalkuli pada tikus dengan metode matriks- asam glikolat^[12]. Sehubungan dengan laporan penelitian diatas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun tempuyung dari fraksi aktif terhadap uji toksisitas BSLT.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain heksana, etil asetat, metanol, akuades, silika gel 60 (0,063 – 0,200 mm), plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT *silica gel* 60 F 254), pereaksi Meyer, pereaksi Lieberman-Burchard, pereaksi Sianidin, FeCl₃ 5%, natrium hidroksida 1% (Merck), Kertas saring, asam asetat 98% (Merck), *n*-butanol (Merck), kloroform (Merck), amoniak (Merck), asam borat (Merck), asam sitrat (Merck), telur udang *Artemia salina*, air laut, dan dimetilsulfoksida (Merck).

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), corong pisah, pipet mikro, camber besar, wadah uji BSLT, spektrofotometer ultraviolet visible (Shimadzu PharmaSpec UV-1700), spektrofotometer inframerah (Thermo Scientific Nicolet iS10 using KBr pellets), kolom kromatografi, lampu UV (λ 254 dan 365 nm), dan peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Persiapan Sampel

Sampel daun tempuyung sebanyak 750 gram diambil disekitar kampus Universitas Andalas, Padang. Sampel dipotong - potong, dikeringanginkan, digrinder sampai halus, dan ditimbang.

2.2.2. Ekstraksi Kandungan Metabolit Sekunder

Sebanyak 25 g serbuk daun tempuyung dimasukan kedalam wadah dan dimaserasi dengan masing-masing pelarut n-heksana, etil asetat, metanol dan air dengan masing-masing 500 mL selama 3 hari (diaduk), setelah itu disaring dan didapatkan filtrat. Filtrat n-heksan, etil asetat dan metanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sedangkan filtrat air diFreezdryer. Ekstrak pekat masing-masing pelarut diuji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.2.3. Skrining Awal Uji Toksisitas Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* Terhadap Ekstrak

Uji berdasarkan metode Meyer (1982)^[13].

2.2.3.1. Pembenihan Udang

Hewan uji yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Larva didapatkan dengan menetas telur udang selama 48 jam dalam wadah pembiakan. Wadah pembiakan terdiri atas dua bagian yang saling terhubung, dimana terdapat bagian terang dan bagian gelap. Wadah kemudian diisi dengan air laut dan telur udang yang akan ditetaskan dimasukkan kedalam wadah bagian gelap. Setelah menetas larva akan berenang menuju bagian terang wadah.

2.2.3.2. Uji Toksisitas

Sebanyak 40 vial uji disiapkan untuk masing-masing ekstrak dan 2 vial untuk larutan kontrol. Sampel uji dengan variasi konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 mg/L masing-masingnya dilakukan duplo. Larutan sampel tersebut diuapkan, setelah kering ditambah 50 μ L dimetil sulfoksida dan dicukupkan 10 mL dengan air laut. Untuk larutan kontrol hanya berisi 50 μ L

dimetil sulfoksida dan air laut. Setelah itu, ke dalam masing-masing vial dimasukkan 10 ekor larva udang.

Terhitung dari larva udang dimasukkan ke dalam masing-masing vial, dilakukan pengamatan setiap 4 jam selama 24 jam dan diamati jumlah larva udang yang mati. LC_{50} dihitung dengan hubungan nilai logaritma konsentrasi dan nilai Probit dari persentase mortalitas hewan uji. Ekstrak yang aktif terhadap uji toksisitas dilanjutkan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder.

2.2.4. Maserasi dan Fraksinasi Dari Daun Tempuyung

Sebanyak 650 g sampel tempuyung yang sudah halus dimaserasi selama 3 hari dengan metanol, kemudian disaring dan diambil filtratnya. Maserasi dilakukan berulang sampai filtrat tidak berwarna dan dilanjutkan dengan menguapkan pelarut dengan *rotary evaporator*.

Ekstrak dari metanol dilakukan proses fraksinasi dengan pelarut n-heksana terlebih dahulu lalu dilanjutkan dengan pelarut etil asetat. Terlebih dahulu ekstrak dilarutkan dengan 200 mL akuades yang sudah dipanaskan dalam gelas piala 1 L dan diaduk dengan stirer selama kurang lebih 30 menit. Kemudian larutan didinginkan dan ditambahkan 100 mL n-heksana dan diaduk selama 2 jam. Setelah itu larutan dimasukkan kedalam corong pisah dan didiamkan selama 1 malam. Ambil lapisan n-heksana dan dilakukan penambahan pelarut n-heksana berulang sampai pelarut menjadi bening, dan dilanjutkan dengan pelarut etil asetat dengan cara yang sama. Fraksi n-heksana, etil asetat dan air tersebut dikeringkan dan dihitung massanya dan dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.2.5. Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi Air

2.2.5.1. Uji Kromatografi Lapis Tipis Pendahuluan

Ekstrak pekat air dilarutkan dengan metanol. Larutan tersebut ditotolkan pada

batas bawah plat KLT yang berukuran 7 x 1 cm (1 cm batas bawah dan 0,5 cm batas atas) dengan menggunakan kapiler. Plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi eluen perbandingan etil asetat : metanol (4:6). dan noda dilihat dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm.

2.2.5.2. Pemisahan Dengan Kromatografi Kolom Dari Fraksi Air

Sebanyak 80 g silika gel yang telah dibuburkan dengan n-heksana lalu dimasukkan ke dalam kolom sedikit demi sedikit dengan keadaan kran kolom terbuka. Fase diam dihomogenkan dengan mengelusi secara berulang-ulang dengan n-heksana. Fraksi air yang akan di kromatografi kolom ditimbang, lalu dipreadsorpsi dengan silika gel perbandingan 1 : 1 dan digerus dengan lumpang sampai terbentuk bubuk. Kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dilanjutkan dengan mengelusi menggunakan eluen n-heksan, etil asetat dan metanol. Eluen yang digunakan adalah sistem eluen *Step Gradien Polarity* (SGP) dengan kenaikan perbandingan 0,5. Hasil elusi ditampung dengan vial, kemudian diuji KLT dan filtrat dengan pola noda yang sama digabung sehingga didapatkan beberapa fraksi (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J). Fraksi C memiliki pola noda yang sederhana.

2.2.5.3. Kromatografi Kertas Fraksi C Hasil Kromatografi Kolom

Untuk menganalisa adanya senyawa kumarin, maka dilakukan analisis pendahuluan dengan kromatografi kertas dengan eluen campuran n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5). Campuran eluen di aduk dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan, kemudian diambil lapisan atas sebagai eluen yang akan digunakan untuk mengelusi pada kromatografi kertas. Noda hasil kromatografi kertas dilihat pada lampu UV 365 nm dengan penampak noda NaOH.

2.2.5.3. Kromatografi Kertas Preparatif Fraksi C Setelah dilakukan kromatografi kertas untuk menentukan fraksi yang mengandung kumarin, maka dipilih fraksi C yang positif mengandung kumarin dengan jumlah relatif banyak. Selanjutnya fraksi C dielusi dengan campuran eluen n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5). Noda yang terlihat pada lampu UV 365 nm di tandai dengan pensil dan dipotong kecil-kecil menggunakan gunting. Kemudian dimaserasi dengan metanol dan dibiarkan beberapa jam sambil diaduk. Lalu larutan disaring dengan kapas. Selanjutnya ekstrak digabung dan diuapkan, kemudian dimonitor dengan plat KLT dengan penampak noda lampu UV 254/365 nm. Endapan yang didapat direkristalisasi sampai didapatkan senyawa murni.

2.2.6. Uji Kemurnian dan Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Kemurnian senyawa ini diuji dengan KLT dengan berbagai perbandingan eluen (8:2, 6:4 dan 4:6).

Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dan Inframerah (IR).

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi Kandungan Metabolit Sekunder

Hasil dari ekstraksi senyawa metabolit sekunder, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ekstraksi dengan pelarut n-heksana, etil asetat, metanol, dan air dari daun tempuyung.

Ekstrak	Massa (gram)	Rendemen (%)
n-Heksana	2,28	9,12
Etil asetat	2,12	8,48
Metanol	2,515	10,06
Air	1,714	6,856

Berdasarkan tabel 2, dapat dilihat bahwa ekstrak daun tempuyung lebih banyak terekstrak pada pelarut metanol dibandingkan pelarut etil asetat, n-heksan ataupun air.

3.2. Skrining Awal Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test Terhadap Ekstrak

Hasil uji toksisitas didapatkan dari perbandingan pada kurva regresi antara log konsentrasi (X) dan persentase pada tabel probit (Y).

Tabel 3. Hasil LC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol, dan air

Ekstrak	Regresi	LC_{50} (mg/L)
n-heksana	$Y = -0,489x + 6,279$	413,04
Etil asetat	$Y = 0,379x + 3,711$	2.517,677
Metanol	$Y = 0,694x + 3,191$	403,645
Air	$Y = 0,380x + 3,063$	125,025

Hasil perhitungan LC_{50} dari masing-masing ekstrak pada Tabel 3 didapatkan bahwa ekstrak n-heksana dan metanol memiliki daya aktif toksisitas terhadap hewan uji karena memiliki nilai LC_{50} yang kecil dari 1000 mg/L. Nilai LC_{50} dari ekstrak etil asetat dan air jauh melebihi 1000 mg/L dan bisa dikatakan bahwa ekstrak etil asetat dan air tidak aktif terhadap uji toksisitas. Ekstrak metanol memiliki daya toksisitas paling tinggi, hal ini menandakan bahwa pelarut metanol mampu mengekstrak kandungan metabolit sekunder pada daun tempuyung yang memiliki daya toksisitas yang tinggi.

3.3. Maserasi dan Fraksinasi Dari Daun Tempuyung

Hasil maserasi dari daun tempuyung dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil fraksi dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air dari daun tempuyung

Fraksi	Warna	Massa (gram)	Rendemen (%)
n-Heksana	Hijau	25,76	13,053
Etil asetat	Coklat	2,133	1,081
Air	Coklat Kemerahan	31,20	15,810

Dari Tabel 4 menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung di dalam daun tempuyung lebih banyak bersifat polar

karena hasil rendemen fraksi air paling besar dibandingkan kedua fraksi lainnya. Hasil dari uji toksisitas dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil LC_{50} fraksi n-heksana, etil asetat dan air

Fraksi	Regresi	LC_{50} (mg/L)
Air	$y = 0,994x + 2,584$	269,774
Etil asetat	$y = 1,058x + 2,203$	440,554
n-Heksana	$y = 0,297x + 4,117$	939,727

Dari hasil uji toksisitas pada Tabel 5, fraksi air yang dilanjutkan dalam pengisolasian metabolit sekunder, karena pada fraksi air yang memiliki nilai LC_{50} terkecil yang menandakan bahwa fraksi air paling tinggi daya toksisitasnya.

3.4. Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi Air

Hasil kromatografi kolom didapatkan 10 fraksi yang lebih sederhana, dan dipilih fraksi C karena memiliki 1 noda sedikit tailing berwarna hijau kekuningan dan memberikan fluoresensi semakin terang ketika ditambahkan NaOH dengan R_f 0,71.

Fraksi C terlebih dahulu dilakukan uji tahap awal dengan kromatografi kertas. Dari hasil uji tahap awal fraksi C tersebut didapat kesimpulan bahwa fraksi C memberikan noda pemisahan yang baik, dimana fraksi ini setelah dielusi didapatkan tiga noda dengan nilai R_f yang jauh berbeda, yaitu berwarna hijau (R_f 0,35), Biru hijau (R_f 0,675) dan biru (R_f 0,84). Fraksi C dilanjutkan untuk pemisahan lebih lanjut dengan kromatografi kertas preparative yang dilakukan berka-kali. Setelah dikromatografi kertas preparatif, noda hijau (R_f 0,35) dipotong dan diekstrak dengan metanol, lalu diambil filtratnya dan disaring. Noda hijau didapatkan larutan berwarna putih kecoklatan. Larutan ini dimonitoring dengan plat KLT dengan penampak noda lampu UV 254 nm, 365 nm dan dengan penampak noda NaOH. Hasil monitoring dengan plat KLT didapatkan noda berwarna hijau, setelah disemprom

NaOH berflouorisensi semakin terang. Ini membuktikan bahwa noda hijau (R_f 0,35) merupakan senyawa kumarin, untuk memperkuat senyawa tersebut adalah kumarin maka dilakukan uji kemurnian dan karakterisasi senyawa tersebut.

3.5. Uji Kemurnian dan Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

3.5.1. Uji Kemurnian

Tabel 6. Pengujian senyawa dengan beberapa penampak noda

Penampak noda	Hasil
Lampu UV 254 nm	1 noda, coklat
Lampu UV 365 nm	1 noda, hijau
Natrium hidroksida 2%	1 noda, Berflouorisensi
Uap I_2	1 noda, coklat
Ammonia	1 noda, tetap hijau
Sitroborat	1 noda, tetap hijau
Asam sulfat 2 N	1 noda, coklat

Tabel 7. Hasil uji kemurnian senyawa dengan plat KLT

Eluen	R_f
Etil asetat : Metanol (8:2)	0,40
Etil asetat : Metanol (6:4)	0,48
Etil asetat : Metanol (4:6)	0,60

Berdasarkan Tabel 6 dan 7 menunjukkan bahwa senyawa yang telah diisolasi telah murni, karena telah menunjukkan 1 noda. Berdasarkan nilai R_f dari hasil uji KLT dengan perbandingan eluen dapat disimpulkan bahwa senyawa yang diisolasi bersifat polar, karena nilai R_f semakin tinggi dengan semakin ditingkatkan kepolaran eluen.

3.5.2. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

3.5.2.1. Spektroskopi UV-Vis

Dari hasil spektrum UV didapatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 204,80 ; 279,60 dan 319,20 nm. Berdasarkan pita serapan maksimum tersebut, dapat diindikasikan adanya ikatan rangkap berkonjugasi, karena sistem konjugasi ini menyerap cahaya pada $\lambda > 200$ nm yang menandakan adanya kromofor yang memberikan transisi dari π ke π^* , yang merupakan kromofor untuk sistem ikatan

rangkap terkonjugasi ($-C=C-C=C-$) atau pada cincin aromatic, serta terdapat kromofor yang memberikan transisi dari n ke π^* dengan adanya pita serapan pada $\lambda_{\text{mak}} > 300$ nm yang menandakan adanya konjugasi heteroatom dengan suatu ikatan rangkap terkonjugasi ($-C=C-C=O-$) yang mengindikasikan pada cincin pyron. Spektrum ini semakin memperkuat hasil karakterisasi secara kimia bahwa senyawa yang diisolasi merupakan senyawa kumarin.

3.5.2.2. Spektroskopi Inframerah (IR)

Spektrum inframerah senyawa hasil isolasi semakin mendukung senyawa hasil isolasi merupakan senyawa kumarin dengan memberikan indikasi beberapa pita serapan, yaitu pada bilangan gelombang $3404,79\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan pita serapan $-OH$ stretching, dan spektrum yang mengindikasikan adanya inti aromatik $C=O$ stretching pada bilangan gelombang $1718,93\text{ cm}^{-1}$, pita serapan pada bilangan gelombang $1636,66\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya gugus $C=C$. Kemudian pada bilangan gelombang $2934,94\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan pita serapan $C-H$ alifatik, pita serapan pada $1254,30\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya gugus $C-O$, pita serapan pada $1060,95\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya gugus $C(O)-O$. Berdasarkan analisis spektrum IR tersebut menegaskan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa kumarin karena memiliki gugus fungsi seperti gugus $C=O$, ikatan rangkap $C=C$, gugus $C(O)-O$.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi dari fraksi air daun tempuyung adalah golongan kumarin yang berupa padatan berwarna putih kecoklatan. Hasil uji toksisitas menunjukkan ekstrak metanol dan fraksi air dari daun tempuyung berpotensi sebagai anti toksisitas dengan nilai LC_{50} masing-masingnya $403,645\text{ mg/L}$ dan $269,774\text{ mg/L}$.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam yang telah banyak memfasilitasi penulis selama penelitian.

Referensi

- [1] Itam, A., Majid, A. M. S. A., Ismail, Z., **2013**, Kestabilan Ekstrak Metanol Daun *Sonchus Arvensis* Pada Penyimpanan, *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, Lampung.
- [2] Putra, F. R., Afrizal, Efdi, M., **2013**, Isolasi Triterpenoid Dan Uji Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*), *Jurnal Kimia Unand* (ISSN No. 2303-3401), No. 1, Vol. 2.
- [3] Chairul, **1999**, Tempuyung Untuk Menghadang Asam Urat, *Puslitbang Biologi LIPI*, Bogor.
- [4] Roselyndiar, **1999**, Fomulasi Kapsul Kombinasi Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Dan Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), *Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia*, Jakarta.
- [5] Murtadlo, Y., Kusriani, D., Fachriyah, E., **2013**, Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) Dan Uji Sitotoksik Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), *Chem Info*, Vol 1, No. 1, 379 – 385.
- [6] Lumbanraja, L. B., **2009**, Skrining Fitokimia Dan Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Terhadap Radang Pada Tikus, *Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara*, Medan.
- [7] Yuhernita, Juniarti, **2011**, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan, *MAKARA SAINS*, No. 1, Vol. 15, 48-52.
- [8] Mutia, D., **2010**, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Anggur (*Vitis vinifera*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST), *Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro*, Semarang.
- [9] Utami, A.W.W., Wahyudi, A.T., Batubara, I., **2014**, Toxicity, Anticancer And Antioxidant Activity Of Extracts From Marine Bacteria Associated With Sponge *Jaspis* sp., *International Journal of Pharma and Bio Sciences* (ISSN 0975-6299), 917-923.
- [10] Rumondang, M., Kusriani, D., Fachriyah, E., **2013**, Isolasi, Identifikasi Dan Uji Antibakteri Senyawa Triterpenoid Dari Ekstrak *n*-Heksana Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), *Chem Info*, No. 1, Vol 1, 156-163.
- [11] Halim, R. Nasa, **2011**, Efek Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Terhadap Penurunan Tekanan Darah Pria Dewasa, *Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha*.
- [12] Dhianawaty, D., Padmawinata, K., Soediro, I., Andreanus, A., Soemardji, **2013**, Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Antikalkuli Apigenin 7-O-Glukosida Dari Daun *Sonchus arvensis* L., Pada Tikus Dengan Metode Matriks-Asam Glikolat, *Fakultas Farmasi FMIPA ITB*, Bandung.
- [13] Meyer, Ferirgni, Putnam, Jacopsen, Nikhols, Mc, Laughlin, **1982**, Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay For Active Lant Constituent, *Plant Medica*, vol 45.

ISOLASI MIKROALGA DARI PERAIRAN AIR TAWAR DI ALIRAN SUNGAI DAERAH LUBUK MINTURUN YANG BERPOTENSI UNTUK PRODUKSI BIODIESEL

Nasrul Zuwardi, Zulkarnain Chaidir, dan Elida Mardiah

Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: zulkarnain_ch@yahoo.co.id

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Research to isolate from freshwater microalgae in the river bottom area Minturun potential for biodiesel production has been carried out. Of the isolated using the dilution method obtained two species of microalgae which allegedly is *Scenedesmus* and *Scenedesmus dimorphus quadricauda* melalui observation by light microscopy at a magnification of 400 times. Both of these species perpendaran light using Nile red staining method under the microscope fluorescence showing lipid production potential. From these observations *S. dimorphus* provide brighter glow that indicate higher levels of lipids. Further extraction conducted on this species using water and hexane solvent to obtain crude extract lipids. Lipids were obtained later in the trans-esterification using an acid catalyst and a base. Trans-esterification results were analyzed using gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) and identified 10 types of fatty acid methyl esters which have potential as a biodiesel.

Keywords : Microalgae, Nile red, trans-esterification, GC-MS, fatty acid methyl ester

I. Pendahuluan

Dengan semakin menipisnya persediaan bahan bakar berbasis fosil, maka diperlukan bahan bakar pengganti yang bersifat terbarukan. Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang dapat diperoleh dari minyak tumbuhan, lemak binatang, minyak kelapa, minyak jelantah dan minyak jarak melalui proses trans - esterifikasi. Seiring dengan laju pertumbuhan kendaraan bermotor, konsumsi bahan bakar minyak makin meningkat. Tingkat konsumsi minyak rata - rata naik 6 % pertahun. Konsumsi terbesar adalah minyak diesel (solar) yang mencapai 22 juta kiloliter pada tahun 2002, sedangkan produksi minyak bumi di Indonesia saat ini tinggal 942.000 barrel perhari. Untuk memenuhi tingkat konsumsi terhadap bahan bakar minyak, dimanfaatkan energi alternatif terbarukan

dari bahan bakar nabati (BBN), diantaranya biodiesel^[1,2]

Mikroalga merupakan sumber biodiesel yang dapat diperbaharui dan dapat memenuhi permintaan minyak untuk transportasi. Mikroalga dapat digunakan sebagai sumber energi bahan bakar alternatif karena mengandung jumlah minyak yang tinggi, dapat diekstrak, diproses, dan diubah menjadi bahan bakar transportasi dengan menggunakan teknologi yang tersedia. Mikroalga memiliki laju pertumbuhan yang cepat, dapat tumbuh tanpa ditanam pada lahan dan hidup pada air yang tidak dapat diminum, memerlukan lebih sedikit air, dan tidak menggantikan kultur tanaman untuk makanan, produksinya tidak bergantung pada cuaca dan dapat dipanen harian. Mikroalga menggunakan proses fotosintesis yang sama dengan tumbuhan tingkat tinggi

sehingga mampu mengurangi efek rumah kaca. Disamping itu, penggunaan mikroalga tidak membahayakan produksi makanan, bahkan mikroalga juga dapat berpotensi sebagai sumber nutrisi karena beberapa mikroalga dapat mengandung asam lemak esensial [3,4,5,6,7].

Mikroalga memiliki kandungan lipid dan asam lemak yang dapat dikonversi menjadi biodiesel melalui reaksi transesterifikasi [8]. Dibandingkan tumbuhan penghasil biodiesel lainnya, mikroalga menghasilkan biodiesel lebih banyak dengan hanya membutuhkan sedikit area tumbuh. Sebagai contoh, minyak yang diperoleh dari tanaman pangan membutuhkan lahan yang luas [9].

Kondisi kultivasi mikroalga merupakan faktor yang penting yang perlu diperhatikan untuk memperoleh akumulasi lipid dalam sel mikroalga. Kondisi kultivasi tersebut berhubungan dengan nutrisi yang diberikan selama kultivasi. *Chlamydomonas reinhardtii* tumbuh dengan baik pada pH 7,5. Pemberian CO₂ akan membantu pertumbuhan, tetapi akan menghambat dalam jumlah yang tinggi. Hal ini disebabkan pengaruh penurunan pH dengan banyaknya CO₂. Kandungan minyak yang terdapat dalam mikroalga ini adalah 25,25% (w/w) dalam biomassa kering [10].

Nutrien utama yang diperlukan untuk produksi mikroalga adalah nitrogen dan fosfor. Masing-masing nutrisi memiliki pengaruh tersendiri terhadap kandungan lipid dalam sel mikroalga. Produktivitas biomassa tertinggi dari mikroalga *Neochloris oleoabundans* diperoleh dengan pemberian nitrogen yang bersumber dari sodium nitrat. NaNO₃ merupakan sumber nitrogen yang dapat mempertinggi kandungan lipid. Intensitas cahaya juga memiliki peran penting dalam akumulasi lipid. Peningkatan intensitas cahaya dan pembatasan pemberian nutrisi pada *Neochloris oleoabundans* menyebabkan peningkatan

jumlah triacylglycerol dari 1,4 % hingga mencapai 12,5% [8,11,12].

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan kimia utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu kalium nitrat (KNO₃), Heksana (C₆H₁₄) teknis, metanol (CH₃OH) teknis, Nile Red (Aldrich Sigma N 3303), dan Bold Basal Medium (BBM).

Peralatan gelas yang digunakan yaitu Erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, pipet gondok, dan kaca arloji. Sedangkan peralatan instrumentasi yang digunakan yaitu mikroskop cahaya (Zeiss Axiovert Erc5s), Spektrofotometer Visible (Thermo Scientific Genesys 20), dan Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC – MS) (QP2010 Shimadzu).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1. Pengambilan sampel

Sampel mikroalga diambil dari sampel air yang berasal dari perairan air tawar di daerah Lubuk Minturun, Padang, Sumatera Barat pada bulan Maret tahun 2013 kondisi cuaca pagi cerah dan suhu sekitar 25-30° C. Sampel diambil dari 4 titik pada bebatuan dan 4 titik pada aliran air dari sungai yang ber-pH 7 kemudian disimpan ke dalam wadah botol kaca 500 mL.

2.2.2. Isolasi mikroalga dari sampel

Sampel yang telah ditumbuhkan dan diamati pertumbuhannya selanjutnya kemudian diisolasi dengan metode dilusi. Masing-masing sumber pengambilan titik mikroalga dimasukkan ke dalam 8 wadah kaca yang masing-masing telah dilabel X₁ hingga X₈ yang kemudian masing-masingnya diencerkan menggunakan media BBM hingga pengenceran 10⁻⁵. Setelah diencerkan, setiap sampel diinkubasi selama 20 hari menggunakan shaker dengan kecepatan 300 rpm. Pertumbuhan sel mikroalga yang telah diencerkan diamati setiap hari dengan menggunakan mikroskop (Zeiss Axiovert Erc5s). Dari hasil

pengamatan mikroskop, diambil sampel yang merupakan koloni tunggal.

2.2.3. Pengukuran pertumbuhan mikroalga

Untuk mengukur konsentrasi biomassa mikroalga setiap harinya digunakan metoda densitas optik. Pengukuran dilakukan untuk membandingkan pertumbuhan mikroalga dalam media BBM. Pengukuran densitas optik dilakukan setiap hari menggunakan spektrofotometer Thermo Scientific Ganesys 20 hingga densitas optiknya menunjukkan penurunan yang signifikan (fasa kematian). Masing – masing isolat diambil sebanyak 20 mL ke dalam kuvet. Kemudian sampel diukur dan didapatkan serapannya.

2.2.4. Pewarnaan nile red

Pewarnaan Nile red (1 mg/mL aseton) dilakukan terhadap isolat yang diperoleh. Mikroalga sebanyak 0,5 mL disentrifius dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit, kemudian dicuci beberapa kali dengan aquadest steril. Setelah dicuci, mikroalga endapkan lagi dengan aquadest steril dan ditambahkan nile red (1 : 100 v/v). Setelah itu dilakukan Inkubasi selama 20 menit dan dilihat di bawah mikroskop fluorescence.

2.2.5. Ekstraksi lipid

Untuk proses ekstraksi, 50 mL metanol dan 50 mL air ditambahkan kedalam wadah yang berisi biomassa basah mikroalga 10 gram. Campuran kemudian di sonikasi selama 8 menit dan distirer selama 1 jam. Lipid diekstrak dengan menggunakan heksana sebanyak 50 mL. Campuran distirer selama 1 jam dengan kecepatan 350 rpm. Setelah itu dilakukan sonikasi selama 8 menit, Fasa heksan diambil dan dipindahkan ke wadah baru. Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali. Ekstrak dirotari evaporator dan kemudian dikering anginkan.

2.2.6. Trans – esterifikasi asam lemak

Proses trans-esterifikasi dilakukan dengan pencampuran ekstrak kasar dan metanol dengan perbandingan 1:6. Ditimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak lipid kasar dan 3

gram metanol. Kemudian larutan dicampurkan dan di tambahkan 0,1 mL katalis asam sulfat 9,5%. Pembuatan campuran diulangi untuk variasi katalis 0,1 mL basa kalium hidroksida 9,5%. Masing – masing campuran distirer dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama 10 menit. Fasa metil asam lemak yang dihasilkan dipisahkan dari fasa gliserol untuk kemudian dianalisis menggunakan GC-MS.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengamatan mikroalga pada sampel

Dari hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop dapat diperoleh 2 jenis mikroalga yang berbeda secara bentuk morfologi. Jenis mikroalga yang terdapat pada sampel air tawar dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari hasil pengamatan mikroskop pada pembesaran 400 x terlihat 2 bentuk mikroalga yang berbentuk bulat dan elips. Terlihat bahwa secara keseluruhan mikroalga pada sampel termasuk jenis alga hijau. Mikroalga yang berbentuk bulat lebih cenderung hidup dengan koloninya dibandingkan dengan mikroalga yang berbentuk elips

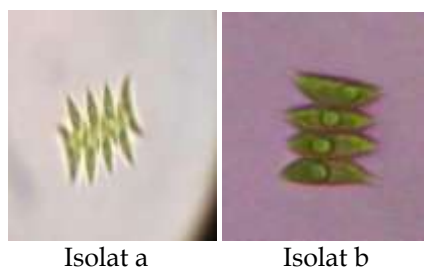


Gambar 1. Jenis mikroalga yang terdapat pada sampel air tawar.

3.2. Isolasi mikroalga dengan metoda dilusi

Hasil isolasi spesies mikroalga pada sampel air tawar dengan menggunakan metoda delusi menunjukkan bahwa setelah 20 hari inkubasi, terdapat dua spesies mikroalga yang terdapat pada sampel. Kedua isolat tersebut secara morfologi dapat diidentifikasi sebagai *Scenedesmus dimorphus* dan *Scenedesmus quadricauda*. Hasil isolasi dengan menggunakan larutan

medium *Bold Bassal's Medium* (BBM) dapat dilihat pada Gambar 2.

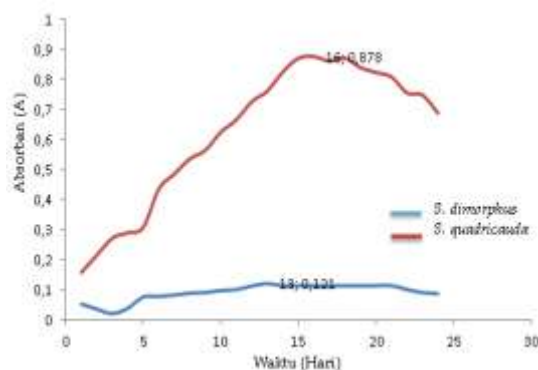


Gambar 2. Spesies mikroalga hasil isolasi.

Identifikasi terhadap sampel diukur dari kemiripan gambar berdasarkan penelitian sebelumnya yang terhimpun di *algaebase.org*. Dari gambar yang didapatkan pada isolat a dilihat memiliki kemiripan dengan gambar pada database menunjukkan bahwa sel tersebut merupakan morfologi dari species *Scenedesmus dimorphus*. Pada isolat b dibandingkan dengan morfologi pada database memiliki kemiripan yang menunjukkan bahwa isolat b adalah species *Scenedesmus quadricauda*.

3.3. Kurva pertumbuhan isolat mikroalga

Pengukuran kurva pertumbuhan menggunakan Spektrofotometer Thermo Scientific Genesys 20 dilakukan selama 25 hari dengan inokulasi yang serupa untuk masing-masing isolat mikroalga. Kurva pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 3.3.



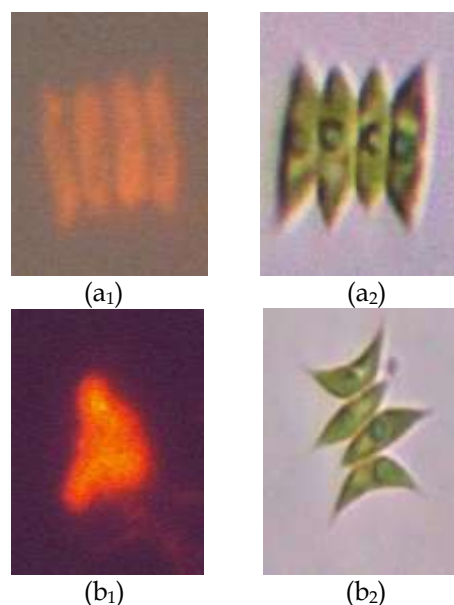
Gambar 3. Kurva pertumbuhan masing-masing isolat mikroalga.

Dari Gambar 3.3 dapat dilihat bahwa pada *S. Dimorphus* mengalami penurunan serapan

hingga hari ke-3 dan meningkat pada hari ke 4 hingga hari ke-14 dan stabil hingga hari ke-21 dan menurun hingga hari ke-24. Hal ini dimungkinkan adanya adaptasi pada *S. Dimorphus* terhadap medium baru dan stabil pada masa stasioner yang disebabkan karena mempunyai daya tahan yang lebih lama pada kondisi yang kritis. *S. Quadricauda* memiliki nilai serapan tertinggi pada hari ke- 16 dan mengalami penurunan nilai serapan hingga hari ke-24. Masa stasioner pada *S. Quadricauda* tidak stabil seperti *S.dimorphus*. Berbeda dengan *S. Quadricauda* yang tidak bertahan lama pada fasa stasioner akibat menumpuknya sisa – sisa metabolisme.

3.4. Pewarnaan Nile red

Hasil pewarnaan Nile red pada isolat mikroalga dapat dilihat pada gambar 3.4.



Gambar 4. Perpendaran lipid dari mikroalga menggunakan reagen Nile Red menggunakan Mikroskop Fluorescence. a₁ menunjukkan perpendaran dari *Scenedesmus quadricauda* (a₂). b₁ menunjukkan perpendaran lipid dari *Scenedesmus dimorphus* (b₂).

Berdasarkan hasil pengamatan menggunakan mikroskop fluorescent diketahui bahwa isolat *S.dimorphus* dan *S.quadricauda* memiliki kandungan lipid karena adanya warna kuning kemerahan yang terbentuk. Perpendaran lipid pada *S. dimorphus* lebih terang dibandingkan *S. quadricauda*.

3.5. Karakterisasi FAME menggunakan GC-MS

Tabel 1. Jenis-jenis asam lemak yang teresterifikasi.

Katalis Asam		Katalis Basa	
Jenis Metil Ester	Persen area (%)	Jenis Metil Ester	Persen area (%)
Metil Dekanoat	0,29	Metil Dekanoat	0,47
Metil Dodekanoat	4,51	Metil Dodekanoat	4,28
Metil Tetradekanoat	4,40	Metil Tetradekanoat	2,50
Metil Heksadekanoat	25,66	Metil Heksadekanoat	22,13
Z,9-metil heksadekanoat	2,33	Z,9-metil heksadekanoat	0,61
Z,9-metil oktadekanoat	33,37	Z,9-metil oktadekanoat	24,60
Metil Pentadekanoat	0,15	Metil Oktadekanoat	1,60
Z,Z,9,12-dimetil Oktadekadienoat	6,60	Z,Z,9,12-dimetil Oktadekadienoat	2,71
Dimetil nonadioat	0,08	Metil Oktanoat	0,43
Metil Eikanoat	0,42		

Karakterisasi *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) digunakan untuk melihat jenis – jenis asam lemak yang dapat membentuk metil ester dengan proses trans-esterifikasi pada jenis katalis tertentu. Pada prosedur yang dilakukan didapatkan data hasil GC-MS yang terlihat pada Tabel 1.

Dari data tersebut didapatkan bahwa komponen yang mengalami trans-esterifikasi dengan persen area yang besar yaitu Z,9-Metil Oktadekanoat dan Metil Heksadekanoat. Dari data GC-MS (terlampir) masih ada asam lemak yang belum tertrans-esterifikasi sehingga tidak membentuk FAME. Komponen-komponen tersebut terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komponen asam lemak yang belum tertrans-esterifikasi didalam sampel berdasarkan data GC-MS.

Katalis Asam		Katalis Basa	
Jenis Asam Lemak	Persen Area (%)	Jenis Asam Lemak	Persen Area (%)
Asam Propanoat	0,06	Asam Z,Z,Z 8,11,14 Eicosatrienoat	2,63
Asam Pentadekanoat	1,87	Asam Pentadekanoat	29,30
Asam Butanoat	0,03		
Asam Oktanoat	0,79		
Asam Z,Z 9,12-Oktadekadienoat	0,08		
Asam Dekanoat	0,80		
Asam Dodekanoat	8,16		

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada aliran sungai lubuk minturun ditemukan mikroalga yang diduga *S. dimorphus* dan *S. quadricauda*. Lipid hasil ekstraksi dari *S. dimorphus* yang memberikan perpendaran lebih terang, didapatkan 10 senyawa FAME yang ditrans-esterifikasikan dengan menggunakan katalis asam sulfat dan basa kalium hidroksida 9,5%.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analais laboratorium biokimia Jurusan Kimia Universitas Andalas.

Referensi

1. Gunawan., **2010**, Keragaman dan Karakterisasi Mikroalga dari Sumber Air Panas Ciwilani yang Berpotensi sebagai Sumber Biodisel. *Bioscientiae*, 7 (2), p. 32 – 42.
2. Rachmaniah. O., Reni, D. S., Lailatul, M., **2010**. Pemilihan Metoda Ekstraksi Minyak Alga Dari *Chlorella sp.* dan Prediksinya sebagai Biodisel. *Seminar Teknik Kmia Soehadi Rekoswarojo*.
3. Luisa, G. A. C. O., **2009**. Microalgae as a raw material for biofuels production. *J Ind Microbiol Biotechnol*,. **36**: p. 269-274.
4. Hossain A. B. M. Sharif, A.S., Amru, N. B., Partha, C., Naquiuddin, M. **2008**. Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, **4**: p. 250-258.
5. da Silva, T. L. A. R., Medeiros, R. Oliveira, A. C., Luisa, G., **2009**. Oil Production Towards Biofuel from Autotrophic Microalgae Semicontinuous Cultivations Monitorized by Flow Cytometry. *Appl Biochem Biotechnol*,. **159**: p. 568-578.
6. Hu, Q. H. M. S., Eric, J., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., Al Darzins, **2008**. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*,. **54**: p. 621-639.
7. Sachitra, R. K., Rachapudi B. N. Prasad, Sarika, C., Dolly W. Dhar, Anil K. Saxena, **2013**. Modulating lipid accumulation and composition in microalgae by biphasic nitrogen supplementation. *Aquaculture*, **392**: p. 69-76
8. Ayhan, D. M., **2011**. Importance of algae oil as a source of biodiesel. *Energy Conversion and Management*. **52**: p. 163-170.
9. Chisti, Y., **2007**. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*,. **25**: p. 294-306.
10. Li Yanqun, M. H., Nan Wu, Christopher Q. Lan, N. D. C., **2008**. *Biotechnol. Prog. Biofuels from Microalgae*,. **24**: p. 815-820.
11. Qing-xue, K., L. L., Martinez, B., Chen, P., Ruan, R., **2010**. Culture of Microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in Wastewater for Biomass Feedstock Production. *Appl Biochem Biotechnol*, **160**: p. 9-18.
12. Anne, J. K., Wijffels, R. H., Packo, P. L., **2013**. Simultaneous growth and neutral lipid accumulation in microalgae. *Bioresource Technology*, **134**: p. 233-243

PENGARUH BEBERAPA PERLAKUAN TERHADAP PENGURANGAN KADAR FORMALIN PADA TAHU YANG DITENTUKAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Vinda Vriska Darman, Zamzibar Zuki dan Yulizar Yusuf

Laboratorium Kimia Analitik Terapan Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: vinda_darman@yahoo.co.id
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

The treatments cases of tofu by using hazardous chemicals (Formaldehyde) still common among in the public, it is necessary to tofu handling that is safe for the public. It has been conducted research on the effects of some treatments on reducing levels of formaldehyde in 2 types of tofu, that tofu I and tofu II, which is determined by UV-Vis spectrophotometry at a wavelength 412.78 nm and temperature at 40 °C. First, tofu soaked in formaldehyde solution (300 mg / L) for 24 hours, then washed, soaked and boiled. The filtrate was reacted with Nash reagent. Yellow color formed was measured at λ 412.78 nm. The results showed that there is a decrease of content formaldehyde in the sample has 18.39% tofu I and 22.63% for the tofu II after washed, 25.91% and 25.51% after soaked, 63.21% and 72.02% after boiled. Furthermore, tofu of the market that allegedly contain formaldehyde and then washed, soaked and boiled. The results showed that there is a decrease in content formaldehyde in the sample tofu I and II has 38.40% and 29.49% after washed, 52.17% and 53.22% after soaked, 87.32% and 85.42% after boiled.

Keywords: Formaldehyde, Nash, Tofu, spectrophotometry

I. Pendahuluan

Tahu mempunyai mutu protein nabati terbaik karena mempunyai komposisi asam amino paling lengkap dan diyakini memiliki daya cerna yang tinggi. Masyarakat cenderung lebih memilih mengkonsumsi tahu sebagai bahan makanan pengganti protein hewani untuk memenuhi kebutuhan gizi karena harganya lebih terjangkau [1].

Kualitas pangan yang dikonsumsi harus memenuhi beberapa kriteria diantaranya adalah aman, bergizi, bermutu, dan dapat terjangkau oleh daya beli masyarakat. Aman yang dimaksud disini meliputi bebas dari pencemaran biologis, mikrobiologis dan kimia. Namun dengan seiringnya waktu, nilai gizi dari beberapa pangan dapat berkurang karena terjadinya reaksi kimia

didalam bahan pangan itu sendiri yang diakibatkan oleh mikroba maupun pengaruh lingkungan sekitar [2]. Kerusakan dan kehilangan bahan pangan dapat diatasi atau dikurangi dengan cara pemberian bahan kimia atau bahan tambahan makanan yang bertujuan untuk mempertahankan nilai gizi, warna, cita rasa, dan memperpanjang waktu penyimpanan pangan [3].

Penggunaan formalin banyak digunakan pada bahan pangan yang mudah mengalami pembusukan karena aktivitas mikroba, penambahan formalin dapat mencegah pertumbuhan mikroba yang menyebabkan pembusukan sehingga masa penyimpanan produksi semakin lama [4].

Sampai saat ini, praktek penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan masih sering dilakukan oleh produsen, seperti terungkap dari hasil survei di beberapa daerah [5]. Dengan demikian, bahan makanan berformalin menjadi ancaman bagi kesehatan dan keselamatan jiwa masyarakat, baik dalam jangka waktu pendek maupun panjang [6]. Oleh karena itu, perlu ada upaya yang harus dilakukan untuk menjamin bahan makanan yang akan dikonsumsi masyarakat bebas formalin. Berdasarkan latar belakang dan survey awal lapangan, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh beberapa perlakuan yaitu pencucian, perendaman dan perebusan pada sampel tahu terhadap pengurangan kadar formalin. Untuk hasil pengujian terlebih dahulu dilakukan terhadap sampel yang direndam dalam larutan formalin dan setelah itu baru dianalisis dengan beberapa perlakuan, dan untuk pengujian selanjutnya dilakukan analisis terhadap beberapa perlakuan pada sampel yang dijual dipasaran. Analisis ini menggunakan spektrofotometri sinar tampak [7].

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Formalin 37 %, ammonium asetat ($\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$) (Merck), asam asetat glacial (CH_3COOH), asetil aseton ($\text{CH}_3\text{COCHCOCH}_3$), akuadest, sampel tahu. Peralatan gelas yang digunakan yaitu erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, labu ukur, kaca arloji, spatula, lumpang alu. Sedangkan peralatan instrumen yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis.

2.2. Prosedur penelitian

Persiapan sampel

Sampel berasal dari dua macam tahu yang proses pembuatannya berbeda. Sampel diberi kode sampel tahu I dan sampel tahu II. Tahap selanjutnya masing – masing sampel tahu I atau tahu II baik yang sebelum direndam atau yang sudah direndam dalam larutan formalin ditimbang sebanyak 10 gram dan ditambah akuadest sebanyak 50 mL. Masing – masing sampel dihaluskan dengan lumpang kemudian

disaring dengan kertas saring kemudian filtrat yang telah disaring dilakukan pemeriksaan dengan penambahan reagent Nash.

Pembuatan reagen Nash

Sebanyak 2 mL asetil aseton, 3 mL asam asetat dan 150 g ammonium asetat dilarutkan dengan akuadest dan dicukupkan volumenya hingga 1 L.

Pengaruh Suhu Terhadap Penentuan Panjang Gelombang dan Nilai Serapan Maksimum

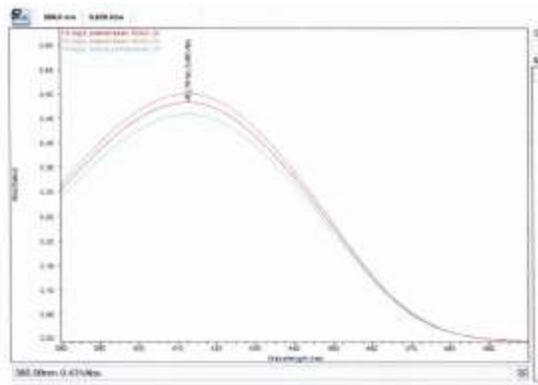
Dipipet sebanyak masing – masing 5 mL larutan formalin 10 mg/L kedalam labu ukur 25 mL. Ditambahkan 5 mL akuadest dan 5 mL pereaksi Nash. Masing – masing campuran dipanaskan dengan penangas air pada suhu 40 °C, 60 °C dan pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah dingin ditepatkan volumenya menggunakan akuadest, dikocok hingga homogen. Diamati serapannya pada panjang gelombang 380 - 490 nm dengan alat spektrofotometer UV-Vis hingga didapat nilai serapan maksimum untuk setiap suhu.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Masing – masing larutan formalin dengan konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 mg/L. Dipipet 5 mL kedalam masing – masing labu 25 mL kemudian ditambahkan akuadest 5 mL dan 5 mL pereaksi Nash lalu dipanaskan dalam penangas air pada suhu optimum selama 30 menit. Setelah dingin ditepatkan volumenya menggunakan akuadest, dikocok hingga homogen.

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Setelah kurva kalibrasi diperoleh, konsentrasi terkecil yang masih dapat terdeteksi (LOD) dan terdeteksi secara kuantitatif (LOQ) dihitung secara statistik melalui garis linier dari kurva standar, setelah diperoleh data simpangan baku respon analitik dari blanko dan slope (b) pada persamaan garis $y = a + bx$.



Gambar 1. Spektrum serapan maksimum larutan formalin pada panjang gelombang dan suhu optimum

Penentuan Persen Perolehan Kembali

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 10 gram, dihancurkan dengan lumpang kemudian ditambahkan formalin konsentrasi 14 mg/L. sampel disaring kedalam labu ukur 50 mL sambil ditambahkan akuadest sebanyak 50 mL. Larutan dipipet sebanyak 5 mL ke dalam labu 25 mL, ditambahkan 5 mL reagen Nash dan 5 mL akuadest. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 40 °C selama 30 menit, didinginkan dan ditepatkan volumenya dengan akuadest kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Persen perolehan kembali diperoleh dari perbandingan konsentrasi sampel setelah adisi dengan sejumlah konsentrasi standar dan sampel.

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \%$$

Keterangan :

- C_1 = Konsentrasi sampel setelah adisi
- C_2 = Konsentrasi sampel sebelum adisi
- C_3 = Konsentrasi Standar yang ditambahkan

III. Hasil dan Pembahasan

Panjang Gelombang dan Suhu untuk Menghasilkan Absorban yang Maksimum

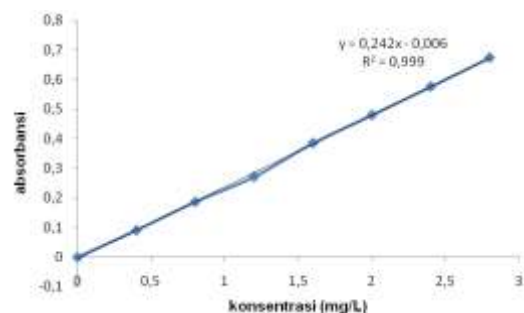
Larutan formalin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan optimum pada panjang gelombang 412,87 nm dan suhu optimum 40 °C dalam pelarut air dan

penambahan reagen Nash (Ammonium asetat, Asam asetat glasial dan Asetil aseton). Hasil spektrum serapan larutan formalin lebih lengkap dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang maksimum yaitu 412,87 nm dan suhu optimum 40 °C dimana pada suhu tersebut dapat menghasilkan nilai absorbansi yang maksimum.

Linearitas dan Kurva Kalibrasi Standar Larutan Formalin

Linieritas adalah suatu koefisien korelasi antara konsentrasi larutan standar dengan serapan yang dihasilkan yang merupakan garis lurus. Uji linieritas dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi yang dapat menghasilkan persamaan garis regresi serta nilai koefisien determinasi yaitu untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan baku dengan nilai serapan yang dihasilkan. Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kurva kalibrasi larutan formalin berupa perbandingan antara konsentrasi (mg/L) dengan nilai absorbansi

Dari hasil pengujian didapatkan persamaan regresi dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 0,242x - 0,006$ dengan nilai $R^2 = 0,999$. Harga R^2 yang mendekati nilai 1 menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan.

Penentuan LOD dan LOQ

Batas deteksi atau *Limit of detection* (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih

memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko. Sedangkan batas kuantitasi atau *Limit of quantitation* (LOQ) merupakan parameter pada analisis renek dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Berdasarkan perhitungan secara statistik menggunakan persamaan garis regresi dari kurva kalibrasi, diperoleh batas deteksi larutan formalin sebesar 0,077 mg/L dan batas kuantitasi larutan formalin sebesar 0,257 mg/L.

Penentuan kadar formalin pada sampel tahu yang direndam dengan larutan formalin

Dari hasil pengujian pada sampel tahu I dan tahu II, didapatkan persentase pengurangan formalin pada masing - masing sampel. Dimana dapat dilihat pada Gambar 3.



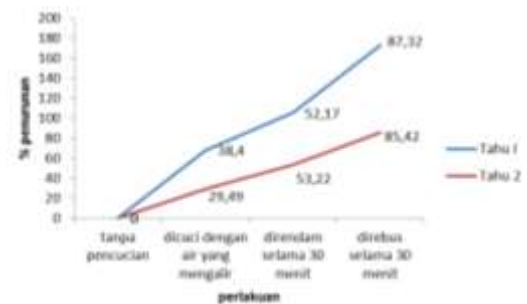
Gambar 3. Grafik persentase pengurangan formalin tahu I dan tahu II yang direndam formalin

Dari hasil analisa dapat dilihat bahwa kadar formalin pada sampel tahu dapat dikurangi dengan memberikan beberapa perlakuan terlebih dahulu. Dari beberapa perlakuan tersebut, perebusan dapat menurunkan kadar formalin yang lebih banyak yakni 63,21% untuk tahu I dan 72,02 % untuk tahu II.

Penentuan Kadar Formalin pada Sampel Tahu yang Dijual Di Pasar Raya Padang

Dari hasil penelitian pada sampel tahu I dan tahu II yang dijual di pasar raya Padang, didapatkan persentase pengurangan formalin dari masing - masing sampel

dengan beberapa perlakuan dimana dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik persentase pengurangan formalin tahu I dan tahu II yang dijual di pasar raya Padang

Dari hasil analisa dapat dilihat bahwa perebusan memang merupakan cara terbaik untuk menghilangkan kadar formalin pada sampel tahu.

Hasil Pengukuran Perolehan Kembali (%)

Penentuan perolehan kembali bertujuan untuk mengetahui tingkat ketepatan suatu metode yang dilakukan dengan cara membandingkan konsentrasi sampel setelah adisi dengan konsentrasi standar dan sampel. Dari hasil pengujian didapatkan perolehan kembali pada sampel ikan yang ditambahkan formalin dengan konsentrasi 14 µg/mL yaitu 105,67 % untuk tahu I dan 102,89 % untuk tahu II. Hasil uji perolehan kembali yang memenuhi syarat adalah 99 % - 110 %. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa metode ini memiliki ketepatan yang cukup baik.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil penurunan kadar formalin dalam sampel tahu I sebanyak 18,39% dan 22,63% untuk tahu II setelah pencucian, 25,91% dan 25,51% setelah perendaman, 63,21% dan 72,02% setelah perebusan. Hasil penurunan kadar formalin dalam sampel tahu I dan II dari pasar yang diduga mengandung formalin sebanyak 38,40% dan 29,49% setelah pencucian, 52,17% dan

53,22% setelah perendaman, 87,32% dan 85,42% setelah perebusan.

V. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada analis laboratorium Jurusan Kimia Universitas Andalas dan semua pihak yang membantu penelitian ini.

Referensi

1. Aoyagi, A., and Shurleff, W., **1975**, The Book of Tofu, Food For Mankind, Auntum Press, Brooklyn, Massacheus, 1
2. Direktorat, **1979**, Departemen Kesehatan RI; Daftar Komposisi Bahan Makanan, *Bhratara Karya Aksara*, Jakarta
3. Winarno, F. G., **1992**, Kimia Pangan dan Gizi, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
4. Muchtadi, D., **1989**, Evaluasi Nilai Gizi Pangan [PAU Pangan dan Gizi], Institut Pertanian Bogor
5. Kiernan, J. A., **2000**, Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde, and Glutaraldehyde: What They Are and What They Do, *Microscopy Today*, pp. 8-12
6. Nadeau, O. W., and Carlson, G. M., **2007**, Protein Interactions Captured by Chemical Cross-linking One-Step Cross-linking with Formaldehyde, Cold Spring Harbor Laboratory, New York
7. Aswad, M., Fatmawaty, A., Nursamsiar, dan Rahmawanti, **2011**, Validasi Metode spektrofotometri sinar Tampak untuk Analisis Formalin Dalam Tahu, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15, hal. 26 – 29

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA TRITERPENOID DARI EKSTRAK HEKSANA PADA KULIT BATANG ASHOKA (*Polyalthia longifolia*)

Chece Andri Saputra, Sanusi Ibrahim, dan Mai Efdi

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: uci_ciliang@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Isolation of triterpenoid compounds from the bark of Ashoka (*Polyalthia longifolia*) was performed. Ashoka bark powder was extracted by maceration method using solvent hexane, ethyl acetate and methanol. Hexane extract was separated using column chromatography with hexane as mobile phase and ethyl acetate in Step Gradient Polarity (SGP) continued recolumn chromatography with isocratic manner. The result compound in the form of needles crystals with melting point of 138-139 ° C and the specific test using Liebermann-Burchard reagent (LB) gives a single red stain with various degrees polarity of the eluent, indicating that the isolated compounds was pure and including of triterpenoids. UV spectra data showed no conjugated double bonds and IR spectra data showed the presence of the -OH functional group at wave number 3429.30 cm⁻¹. The wave number 2934.30 cm⁻¹ indicated the peak -CH stretching, while the C = O at 1709.46 cm⁻¹, and the geminal dimethyl group which is a specific absorption of triterpenoid compound shown in the area 1382.16 cm⁻¹. toxicity test with brine shrimps method showed that the hexane crude gives high power toxicity.

Keyword:: Ashoka (*Polyalthia longifolia*), Triterpenoid, Toksisitas

I. Pendahuluan

Senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan merupakan hasil dari metabolisme, baik metabolisme primer maupun metabolisme sekunder. Hasil metabolisme sekunder banyak memberikan efek fisiologis dan efek farmakologis yang lebih dikenal dengan senyawa kimia aktif. Keanekaragaman dan kekayaan sumber daya hayati menyediakan peluang dalam mengkaji kandungan kimia berkhasiat untuk diolah menjadi antara lain sebagai bahan baku industri, pangan dan sebagai obat-obatan. Banyak jenis tumbuhan yang sudah dimanfaatkan sejak lama sebagai makanan dan obat-obat tradisional, tapi belum diketahui senyawa yang terkandung di dalamnya.[1]

Penggunaan tumbuhan obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit telah lama dilakukan manusia. Hal ini mendorong para ahli untuk mengkaji kandungan tumbuhan tersebut yang berperan sebagai sumber obat. Sampai saat ini masih banyak potensi tumbuhan obat yang belum

diteliti. Hal ini mendorong para ahli untuk melakukan penelitian tentang isolasi, sintesis, uji bioaktivitas, dan pemanfaatan lebih lanjut.[2]. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah tanaman shoka atau *Polyalthia longifolia*.

Polyalthia longifolia merupakan salah satu spesies dari family Annonaceae. *Polyalthia longifolia* merupakan tumbuhan *evergreen* yang berasal dari India, umumnya ditanam karena keefektifannya dalam mengurangi polusi udara. Kenampakan pohon ini berupa piramida simetris dengan cabang seperti pendulum dan daun lanset dengan tepi bergelombang. Pohon ini dapat tumbuh sampai 30 kaki.[3]

Polyalthia longifolia merupakan tanaman yang dianggap penting karena dapat digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman ini juga digunakan sebagai agen antipiretik, efek

antimikroba, fungsi sitotoksik, dan efek hipotensi.[4]

Pada penelitian kali ini dilakukan upaya untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa triterpenoid dari ekstrak heksana pada kulit batang *Polyalthia longifolia* dan menguji aktivitas toksisitas nya.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengisolasi kandungan metabolit sekunder golongan senyawa triterpenoid dari fraksi heksana pada kulit batang *Polyalthia longifolia* dan menguji aktifitas toksisitas dari ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol dari kulit batang Ashoka (*Polyalthia longifolia*).

Penelitian ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu Kimia Organik Bahan Alam dalam mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada kulit batang Ashoka (*Polyalthia longifolia*).

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel kulit batang ashoka, pelarut teknis yang telah didistilasi yaitu heksana, etil asetat dan metanol. Fasa diam yang digunakan pada kromatografi kolom yaitu silika gel 60 F₂₅₄. Plat kromatografi lapis tipis (KLT) DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck (20x20 cm), kertas saring dan aluminium foil. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu pereaksi Mayer untuk identifikasi alkaloid, pereaksi Lieberman Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, sianidin test (bubuk magnesium dan asam klorida pekat) untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik, ammonia (NH₄OH), natrium hidroksida (NaOH) untuk identifikasi kumarin dan akuades (H₂O). Bahan yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu *Artemia salina*, DMSO, dan air laut.

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Uji Profil Fitokimia

Serbuk halus kulit batang Ashoka sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol yang telah dipanaskan (di atas penangas air) selama 15 menit. Kemudian disaring dalam keadaan panas ke tabung reaksi lain dan biarkan

seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu ditambahkan kloroform dan akuades perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, kemudian pindahkan ke dalam tabung reaksi, biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid sedangkan lapisan air digunakan sebagai uji terhadap senyawa flavonoid, fenolik dan saponin.

2.2.2 Ekstraksi Kulit Batang Ashoka (*Polyalthia longifolia*)

Serbuk halus kulit batang Ashoka ($\pm$ Kg) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Maserasi pertama kali dilakukan dengan pelarut heksana selama 3-4 hari (sambil dikocok sekali-kali). Kemudian disaring. Maserasi dilakukan berulang kali hingga maserat tidak lagi memberikan warna pekat atau terjadi perubahan warna yang signifikan dari maserasi pertama. Hasil dari maserasi kemudian digabungkan dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak pekat heksana. Ampas yang didapat dari maserasi dengan heksana, kemudian dimaserasi lagi menggunakan etil asetat selama 3-4 hari dengan metode yang sama. Hasil dari maserasi kemudian digabungkan dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak pekat etil asetat. Ampas dari maserasi dengan etil asetat dimaserasi dengan metanol dengan perlakuan yang sama seperti maserasi heksana dan etil asetat.

2.2.3 Kromatografi Kolom

Sebelum melakukan kromatografi kolom, ekstrak kental heksana tersebut terlebih dahulu di KLT dengan beberapa variasi eluen agar dapat menentukan pelarut yang cocok untuk proses pemisahan dengan kromatografi kolom ini. Dengan KLT ini nantinya juga dapat ditentukan apakah pemisahan menggunakan SGP atau isokratik.

Pemisahan-pemisahan senyawa dari ekstrak kental fraksi heksana ini dipisahkan dengan metoda kromatografi kolom dengan menggunakan fasa diam silika gel dan fasa

gerak heksana, etil asetat dan methanol. Dalam pembuatan kolom, ± 100 gram silika gel dibuat menjadi seperti bubur dengan menggunakan pelarut heksana dan kemudian dimasukkan secara perlahan-lahan kedalam kolom yang sebelumnya pada dasar kolom telah diberi kapas yang berfungsi sebagai penyaring atau penahan silika. Ketika memasukkan bubur silika kedalam kolom, sepertiga kolom harus terisi dengan pelarut heksana dengan kondisi kran terbuka. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kemungkinan adanya gelembung udara pada kolom yang nantinya dapat mengganggu proses pemisahan. Setelah dimasukkan bubur silika tadi, kemudian dimasukkan sampel yang akan dikolom yang terlebih dahulu dipreabsorpsi dengan mencampurkan ekstrak kental heksana dengan silika dengan perbandingan 1 : 1 sampai homogeny dan berbentuk bubuk.

Selanjutnya kolom dielusi dengan sistem SGP yang dimulai dari pelarut non polar yaitu heksana 100 %,etil asetat 100% dan methanol 100%. Hasil elusi dari kolom ditampung dengan vial dan kemudian di KLT untuk mengetahui pola nodanya. Pola noda dan Rf yang sederhana kemudian digabungkan sehingga didapatkan beberapa fraksi yang lebih sederhana.

Fraksi dengan pola noda yang lebih sederhana kembali direkromatografi kolom dan hasilnya di KLT kembali. Proses ini dilakukan hingga didapatkan noda tunggal pada plat KLT yang terlihat dibawah lampu UV, dengan menggunakan uap iodin, dan pereaksi Liebermann-Burchard. Senyawa yang telah murni dilanjutkan dengan menguji kemurniannya dengan KLT dan titik leleh, dan dilanjutkan dengan karakterisasi dengan spektroskopi ultraviolet (UV-Vis) dan inframerah serta melakukan uji bioaktivitas berupa uji toksisitas.

2.2.4 Uji kemurnian dan Karakterisasi Senyawa

2.2.4.1 Uji Kromatografi Lapisan Tipis

Senyawa hasil isolasi dilarutkan dengan pelarut yang sesuai dan ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan beberapa perbandingan eluen. Hasil elusi dilihat dengan menggunakan pengungkap noda

lampu UV λ 254 nm dan λ 365 nm, uap iodin, dan pereaksi Lieberman-Burchad. Untuk senyawa murni akan memberikan bercak noda tunggal meskipun digunakan eluen dengan kepolaran yang berbeda.

Identifikasi golongan senyawa dilakukan sebagai uji lanjutan untuk mengetahui golongan senyawa yang diisolasi. Uji golongan senyawa dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan lampu UV 254 dan 365 nm sebagai pengungkap noda, uap iodin, pereaksi Lieberman-Burchad, Amonia dan Natrium Hidroksida

2.2.4.2 Pengukuran Titik Leleh

Senyawa hasil isolasi dimasukkan ke dalam pipa kapiler kemudian diamati saat senyawa mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya menggunakan *melting point apparatus*. Senyawa hasil isolasi dianggap murni jika jarak titik lelehnya $\leq 2^{\circ}\text{C}$.

2.2.4.3 Spektroskopi Ultraviolet-Visible (UV-Vis) dan Infra Merah (IR)

Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR dimana masing-masing spektrum yang didapatkan dianalisis sehingga didapatkan informasi tentang golongan dan struktur senyawa tersebut.

2.2.5 Uji Toksisitas dengan Metoda *Brine Shrimps Lethality Bioassay*

Pada percobaan ini, hewan yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Larva ini diperoleh dengan cara menetas telur udang selama 48 jam dalam wadah pembiakan. Wadah pembiakan terdiri atas dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Wadah pembiakan ini kemudian diisi dengan air laut, dan telur udang yang akan ditetaskan ditempatkan pada bagian gelap. Setelah menetas larva akan berenang menuju bagian terang.

Uji toksisitas ini dilakukan terhadap ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol. Persiapan sampel dilakukan dengan menimbang masing-masing ekstrak pekat sebanyak 0,1 g, kemudian dilarutkan dengan 100 mL metanol, sehingga didapatkan konsentrasi sampel 1000 mg/L yang dianggap sebagai larutan induk.

Variasi konsentrasi larutan sampel yang digunakan adalah 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L, dan 1000 mg/L. Kelima variasi konsentrasi dibuat dengan mengencerkan larutan induk dengan memipet larutan induk sebanyak 2; 4; 6; 8; dan 10 mL dalam labu 100 mL dan dimasukkan dalam vial. Larutan sampel tersebut diuapkan, ditambah 50 µL larutan dimetil sulfoksida dan dicukupkan 10 mL dengan air laut. Untuk larutan kontrol hanya dimasukkan 50 µL larutan dimetil sulfoksida dan air laut. Setelah itu, ke dalam masing-masing vial dimasukkan 10 ekor larva udang. Terhitung sejak larva udang dimasukkan ke masing-masing vial, diamati jumlah kematian larva udang setiap 4 jam. Jumlah larva yang mati dihitung setelah 24 jam, dihitung LC_{50} dengan hubungan nilai logaritma konsentrasi bahan toksik uji dan nilai Probit dari persentase mortalitas hewan uji merupakan fungsi linear $Y = a + bX$

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Profil Fitokimia

Dalam penelitian ini, uji profil fitokimia hanya dilakukan terhadap ekstrak heksana yang diperoleh dari proses ekstraksi. Hasil uji fitokimia pada ekstrak heksana tersebut menunjukkan bahwa yang senyawa yang aktif yang terkandung dalam ekstrak heksana ialah senyawa triterpenoid dan steroid.

3.2 Ekstraksi Kulit Batang Ashoka (*Polyalthia longifolia*)

Kulit batang Ashoka (*Polyalthia longifolia*) yang telah halus ditimbang sebanyak ± 2 Kg dimaserasi dengan pelarut heksana. Setelah proses maserasi selama 3–4 hari diperoleh ekstrak berwarna kuning. Maserasi pertama dengan pelarut heksana dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan sehingga didapatkan ekstrak pekat heksana sebanyak 25,061 gram. Selanjutnya dilakukan maserasi dengan pelarut etil asetat dengan cara yang sama sehingga didapat ekstrak berwarna hijau dan sebanyak 23,259 gram, dan selanjutnya dilakukan maserasi dengan metanol dengan cara yg sama seperti heksana dan etil asetat dan didapatkan ekstrak pekat metanol sebanyak 10,280 gram.

3.3 Kromatografi Kolom

Ekstrak heksana di KLT terlebih dahulu sebelum melakukan kromatografi kolom. Uji KLT dilakukan menggunakan eluen heksana dan etil asetat dengan perbandingan tertentu. Variasi eluen yang digunakan ialah heksana 100%, heksana : etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5). Pola noda yang dihasilkan dari uji KLT tersebut saat diungkap dengan lampu UV 254 nm dan 365 nm yaitu menunjukkan pola noda yang tailing dan noda nya berdempet sehingga sulit dipisahkan dengan menggunakan sistem isokratik. Oleh karena itu pemisahan dengan kromatografi kolom lebih tepat dengan sistem elusi SGP.

Sebanyak 10 gram ekstrak heksana dikromatografi kolom menggunakan perbandingan pelarut heksana : etil asetat (dimulai dengan heksana 100 % dan dinaikkan kepolarannya 0,5 sampai perbandingan etil asetat 100%) sebagai fasa gerak dan silika gel 60 F₂₅₄ (0,063–0,200 mm) sebagai fasa diam. Hasil kromatografi kolom ditampung dengan vial dengan jumlah vial total ialah sebanyak 702 vial.

Hasil kromatografi kolom selanjutnya di KLT untuk mengetahui pemisahan dengan timbulnya bercak pada noda pada plat KLT ketika dilihat pada lampu UV 254 nm dan 365 nm. Selanjutnya Fraksi dengan pola noda dan R_f yang sama digabungkan sehingga didapatkan 14 fraksi yang sederhana yaitu fraksi A – N. Dari 14 fraksi tersebut, fraksi G memiliki dua noda yang terpisah jauh, sehingga lebih mudah untuk dipisahkan. Untuk itu fraksi G dilakukan rekromatografi kolom dengan perbandingan eluen heksana : etil asetat (9:1) karena pada perbandingan eluen tersebut pada saat di KLT menunjukkan pola noda yang lebih sederhana. Hasil dari rekromatografi kolom ditampung pada vial yang terdapat pada vial 1–35 dengan total volume eluen yang terpakai adalah 1000 mL. Dari hasil rekromatografi kolom didapatkan 6 subfraksi gabungan berdasarkan pola pemisahan yang sama. Dari 6 subfraksi yang ada, pengujian selanjutnya difokuskan untuk mendapatkan senyawa yang ada pada subfraksi G.III karena pada uji KLT menampakkan noda tunggal. Pada uji KLT, didapatkan hasil bahwa senyawa tersebut menimbulkan noda tunggal saat diberi

pengungkap noda LB, dan padatan yang didapatkan berupa jarum berwarna putih.

3.4 Uji Kemurnian dan Karakterisasi Senyawa

3.4.1 Uji Kromatografi Lapisan Tipis

Pada subfraksi G.III yang diperoleh dilakukan uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen heksana : etil asetat (9:1). Dari uji KLT yang dilakukan diperoleh noda tunggal ketika diberi pengungkap noda LB dengan Rf 0,28.

Untuk memastikan kemurnian senyawa, dilakukan pengujian KLT dengan menggunakan berbagai variasi eluen dan hasil KLT tersebut tercantum pada tabel 3.5

Tabel 1. Uji kemurnian senyawa dengan KLT

No	Eluen	Rf
1	Heksan : etil asetat (9:1)	0,28
2	Heksan : etil asetat (8:2)	0,44
3	Heksan : etil asetat (6:4)	0,98

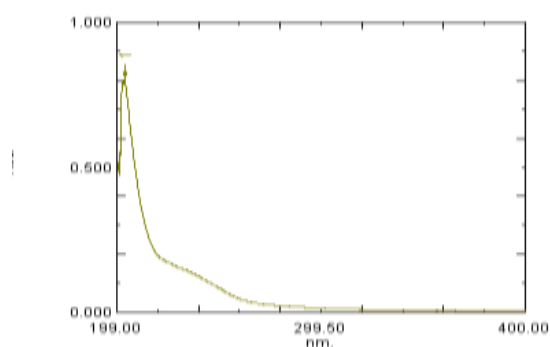
Berdasarkan hasil uji KLT di atas disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi sudah murni karena hanya menunjukkan satu noda. Dari pola noda yang terlihat diindikasikan bahwa senyawa yang diperoleh tergolong ke dalam kelompok senyawa triterpenoid karena senyawa menunjukkan noda yang tunggal pada saat diberi pengungkap noda LB dan berwarna merah yang merupakan ciri khas senyawa triterpenoid.

3.4.2 Pengukuran Titik Leleh

Untuk memastikan apakah senyawa yang didapatkan telah murni atau belum maka dilakukan uji titik leleh senyawa. Dari hasil pengujian titik leleh didapatkan titik leleh dari senyawa ini adalah sebesar 138-139°C. Rentang titik leleh senyawa yang didapatkan adalah 1°C ini mengindikasikan bahwa senyawa telah murni karena senyawa dapat dikatakan murni apabila titik lelehnya mempunyai rentang $\leq 2^\circ\text{C}$.

3.4.3 Spektroskopi UV

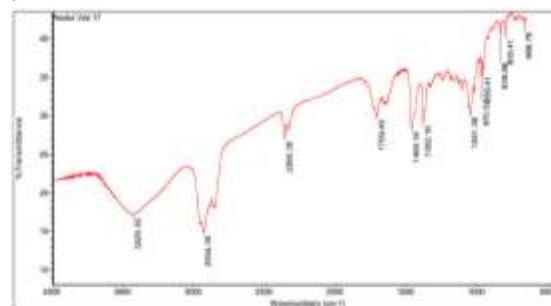
Hasil pengukuran spektrum uv-vis dapat dilihat pada gambar 1. Hasil pengukuran uv-vis senyawa murni menunjukkan panjang gelombang maksimum terletak pada 199 nm dengan absorban 0,8. Hal ini menunjukkan tidak terdapat ikatan rangkap berkonjugasi karena ikatan rangkap berkonjugasi mempunyai panjang gelombang maksimum disekitar 230 nm. Panjang gelombang maksimum pada 199 nm menunjukkan terjadinya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$.



Gambar 1. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dengan pelarut metanol

3.4.5 Spektroskopi Inframerah

Karakterisasi senyawa hasil isolasi yang dilakukan dengan FTIR diperlihatkan pada gambar 2. Pada spektrum IR tersebut menunjukkan adanya serapan untuk beberapa gugus fungsi seperti gugus fungsi -OH pada bilangan gelombang $3429,30\text{ cm}^{-1}$, -CH stretching pada $2934,35\text{ cm}^{-1}$, C=O pada $1709,46\text{ cm}^{-1}$, dan gugus geminal dimetil pada $1382,16\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan khas senyawa golongan triterpenoid.



Gambar 2. Spektrum Inframerah senyawa hasil isolasi dengan plat KBr

3.5 Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Ekstrak

Uji toksisitas dilakukan terhadap ketiga ekstrak hasil maserasi dari sampel. Uji ini dilakukan untuk mengetahui aktifitas toksisitas masing-masing ekstrak. Dari hasil uji toksisitas yang telah dilakukan, didapatkan hasil LC_{50} yang merupakan nilai kematian atau jumlah udang yang mati dari masing-masing ekstrak.

Tabel 2. Hasil LC_{50} fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol

No	Ekstraks	Regresi	LC_{50} (mg/L)
1	n-heksana	$Y = 1,167X + 1,853$	489,78
2	Etil asetat	$Y = 0,946X + 1,888$	1905,46
3	Metanol	$Y = 0,252X + 4,288$	691,83

Dari hasil perhitungan LC_{50} , dapat disimpulkan bahwa hanya ekstrak heksana dan metanol yang aktif terhadap pengujian toksisitas karena memiliki $LC_{50} < 1000$ mg/L. Sedangkan ekstrak etil asetat tidak aktif terhadap uji toksisitas karena memiliki nilai LC_{50} yang besar dari 1000mg/L. Ekstrak heksana yang mempunyai daya toksisitas yang paling tinggi karena memiliki nilai LC_{50} yang paling rendah. Hal ini menandakan bahwa pelarut heksana mampu mengekstrak kandungan metabolit sekunder dari kulit batang Ashoka (*Polyalthia longifolia*) yang memiliki daya toksisitas paling tinggi.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi dari fraksi heksana kulit batang ashoka adalah golongan triterpenoid yang berupa padatan berwarna putih. Hasil uji toksisitas menunjukkan ekstrak heksana berpotensi sebagai anti toksisitas yang paling baik dengan nilai LC_{50} 489, 78 mg/L.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan Laboratorium Instrumen yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

VI. Referensi

1. Thenmozhi M., Sivaraj R., 2010, Phytochemical Analysis And Antimicrobial Activity Of *Polyalthia longifolia*, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, Vol. 1.
2. Saxena G., McCutcheon AR., Farmer S, Towers, 1994, GHN and Hancock REW: Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. *J. Ethnopharmacol*, 42, 95-99.
3. Wu Y. C., Duh C. Y., Wang S. K., Chen K. S. And Yang T. H., 1990, Two new natural azofluorene alkaloids and a cytotoxic aporphine alkaloids from *P. longifolia*, *J. Nat. Prod.*, 53, 1327-1331.
4. Ogunbinu A.O, Ogunwande I.A., 2007, Essien E, Sesquiterpenes-Rich Essential Oils of *Polyalthia longifolia* Thw. (*Annonaceae*) from Nigeria. *Journal of Essential Oil Research*, 19, 419-21.
5. Chen, Chung-Yi Fang-Rong, Chang Yao-Ching, Shih Tian-Jye, Hsieh Yi-Chen, Chia Huang-Yi, 2000, Cytotoxic Constituents of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*, *Journal of Natural Products*, 63, 1475-1478.
6. Subramanion L J., Yee Siew Choong, dkk, 2013, *Polyalthia longifolia* Sonn: an Ancient Remedy to Explore for Novel Therapeutic Agents, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, January-March Volume 4 Issue 1 Page No. 714.

STUDI METODE PENENTUAN NIFEDIPINE DENGAN TITRASI BEBAS AIR (NON AQUEOUS)

Jeany Buchermi, Yulizar Yusuf, dan Umiati Loekman

Laboratorium Kimia Analitik Terapan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

e-mail : jeanybuchermi29@gmail.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 2516

Abstract

The non-aqueous titration study using three types of samples. This study aims to determine the nifedipine levels contained in drugs of different products samples. LOD values were obtained sequentially in nifedipine, nifedipine and farmlat is 0.0514; 0.0436 and 0.0532. LOQ value in nifedipine, nifedipine and farmlat is 0.1712; 0.1455 and 0.1772. Values of the correlation coefficients obtained in a strong linearity test with one-way relationship. Value %recovery obtained at nifedipine, nifedipine and farmlat is 100.06%; 98.75% to 100.9%. Levels obtained dried samples ranged from 1.53% to 2.74%, with the highest content in nifedipine and lower in the nifedipine (OGBdexa).

Keywords: Nifedipine, non-aqueous titration.

I. Pendahuluan

Hipertensi hingga saat ini masih menjadi permasalahan utama di bidang kesehatan, tidak hanya di Indonesia namun juga di seluruh dunia. Di Negara lain berbagai upaya telah dilakukan seperti pendeteksian, pencegahan sudah banyak dilakukan. Hipertensi merupakan tekanan darah persisten atau terus menerus sehingga melebihi batas normal dimana tekanan sistolik diatas 140 mmHg dan tekanan diastole di atas 90 mmHg [1].

Hipertensi biasa juga disebut “Silent Killer” karena pada stadium ini tidak diketahui tanda dan gejala subjektif yang mengidentifikasi adanya penyakit. Hipertensi umumnya terjadi pada usia lebih dari 30 tahun, dan diperberat dengan adanya faktor predisposisi di antaranya genetik, geografi dan lingkungan, janin, jenis kelamin, usia, kegemukan, dan lainnya. Banyaknya kasus fatal karena penyakit hipertensi disebabkan kurangnya pengetahuan dan kesadaran masyarakat terhadap bahaya penyakit ini. Ada dua cara terapi dalam menurunkan hipertensi yaitu dengan terapi farmakologi atau tradisional

(pengobatan alamiah) dengan menggunakan bahan-bahan alami seperti buah, sayuran dan herbal.

Calcium Channel Bloker (CCB) adalah sekelompok obat yang bekerja dengan menghambat masuknya ion Ca^{2+} melewati slow channel yang terdapat pada membran sel (sarkolema). Calcium Channel Bloker juga merupakan antihipertensi yang dapat bekerja pula sebagai obat angina dan antiaritmia, sehingga merupakan obat utama bagi penderita hipertensi yang juga penderita angina. Contoh dari penghambat Kanal Ca^{2+} (CCB) adalah amlodipine dan nifedipine.

Sebelumnya telah dilakukan penelitian menggunakan metode potensiometri tanpa air dengan sampel amlodipine oleh Rajan dan Rohit [3]. Oleh karena itu peneliti melakukan penelitian terhadap nifedipine dengan menggunakan metode titrasi bebas air yang merupakan senyawa yang sama-sama berada dalam golongan dihidropiridine. Penelitian ini mempelajari bagaimana penggunaan metoda titrasi bebas air (non-aqueous) untuk penentuan senyawa nifedipine yang terkandung pada beberapa obat, dengan mengetahui tingkat

presisi, linearitas, batas deteksi LoD dan kuantisasi LoQ serta *recovery* dari *nifedipine*. Penelitian ini bermanfaat sebagai pengembangan metode yang akan sangat berguna untuk industri farmasi dan organisasi penelitian.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Agustus 2014 di Laboratorium Analisis Terapan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan adalah labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, buret, kaca arloji, spatula besi, neraca analitik, aluminium foil, sarung tangan, masker, cawan petri.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah nifedin (sanbe), *nifedipine* (OGB dexta), farmalat (fahrenheit), Asam perklorat (Merck), Asam asetat glasial (Merck), kalium hidrogen flatat (Merck), kristal *violet*.

Prosedur Kerja

Pembuatan Larutan

1. Asam Perklorat 0,1 N
Larutan asam perklorat 0,1 N dibuat dalam labu 100 mL. Dipipet 0,9 mL asam perklorat (p.a), dilarutkan dalam 100 mL asam asetat glasial.
2. Indikator Kristal *Violet* 0,5%
Ditimbang bubuk kristal *violet* sebanyak 0,5 gram. Diencerkan dalam labu ukur 100 mL, menggunakan asam asetat glasial sebagai pelarut.

Standarisasi Asam Perklorat

Kalium Hidrogen Ftalat, ditimbang sebanyak 0,0070 gram, dilarutkan dalam 50 mL asam asetat glasial 100% anhidrat. Ditambahkan larutan kristal *violet* lebih kurang 0,1 mL atau 2 tetes, lalu dititrasi dengan asam perklorat sampai warna ungu berubah menjadi hijau. Dihitung konsentrasi asam perklorat.

3.3.1 Uji Linearitas

Sampel ditimbang sebanyak 0,1 g; 0,3 g; 0,5 g; 0,7 g; 0,9 g dilarutkan dalam 50 mL asam asetat glasial, dititrasi dengan asam perklorat 0,1 N, dicari hubungan antara berat *nifedipine* Vs asam perklorat. Setelah itu ditentukan koefisien korelasi, *slope*, *intercept* dan persamaan regresi.

3.3.2 Uji Recovery

Sampel *nifedipine* ditimbang masing-masing sebanyak 0,1 g; 0,3 g; 0,5 g; 0,7 g; 0,9 g (dengan tiga kali pengulangan masing-masing penimbangan) dilarutkan dalam 50 mL asam asetat glasial. Dititrasi dengan asam perklorat 0,1 N, lalu dihitung persen *recovery*.

Penentuan Kuantitatif *Nifedipine*

Analisis dengan Titrasi Bebas Air

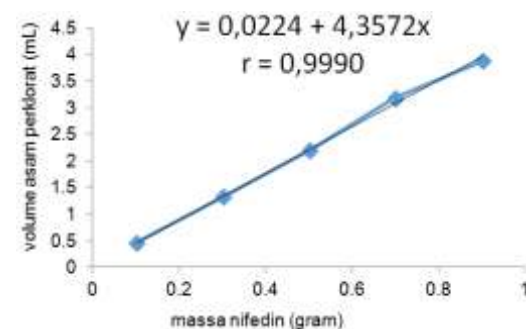
Sampel uji *nifedipine* ditimbang 0,1 g sebanyak 5 kali ulangan dan dilarutkan dalam 50 mL asam asetat glasial, dititrasi dengan asam perklorat 0,1 N. Dihitung nilai S dan %RSD. Ditentukan kadar *nifedipine* dalam obat.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Linearitas

Nifedin.

Grafik 4.1 merupakan grafik antara massa obat nifedin dalam satuan gram dengan volume asam perklorat 0,1033 N dalam satuan mL. Dapat dilihat bahwa nilai *slope* 4,3572, nilai *intercept* 0,0224 dan nilai koefisien korelasi adalah 0,9990. Persamaan regresi dari massa nifedin dan volume asam perklorat ini adalah $y = 0,0224 + 4,3572x$.



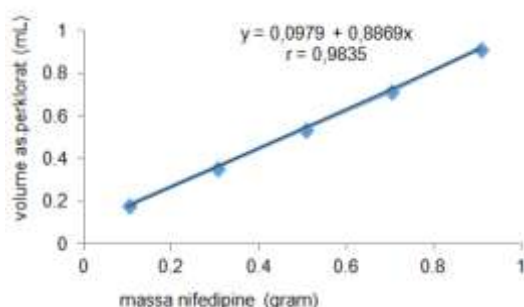
Grafik 4.1 massa nifedin vs volume asam perklorat 0,1033 N

Hasil koefisien korelasi persamaan $y = a + bx$ kurva kalibrasi pada grafik 4.1 menunjukkan hasilnya memberikan respon yang linear, karena koefisien korelasi (r) yang didapat sebesar 0,9990.

Nilai koefisien korelasi baik apabila nilai 0,9900 atau lebih besar [22]. Hasil percobaan koefisien korelasi yang didapat 0,9990 atau lebih besar dari nilai r yang disarankan AOAC sehingga r yang didapatkan dari percobaan memenuhi syarat.

Nifedipine.

Grafik 4.2 merupakan grafik antara massa obat *nifedipine* dalam satuan gram dengan volume asam perklorat 0,1033 N dalam satuan mL. Dapat dilihat bahwa nilai *slope* 0,8869, nilai *intercept* 0,0979 dan nilai koefisien korelasi adalah 0,9835. Persamaan regresi dari massa nifedipine dan volume asam perklorat ini adalah $y = 0,0979 + 0,8869x$.

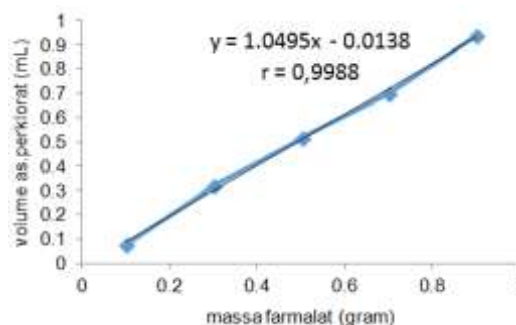


Grafik 4.2 massa nifedipine vs volume asam perklorat 0,1033 N

Hasil koefisien korelasi persamaan $y = a + bx$ kurva kalibrasi pada grafik 4.1 menunjukkan hasilnya memberikan respon yang linear, karena koefisien korelasi (r) yang didapat sebesar 0,9835.

Farmalat

Grafik 4.3 merupakan grafik antara massa obat farmalat dalam satuan gram dengan volume asam perklorat 0,1033 N dalam satuan mL. Dapat dilihat bahwa nilai *slope* 1,0495, nilai *intercept* -0,0138 dan nilai koefisien korelasi adalah 0,9988. Persamaan regresi dari massa farmalat dan volume asam perklorat ini adalah $y = 1,0495x - 0,0138$.



Grafik 4.3 massa farmalat vs volume asam perklorat 0,1033 N

Hasil koefisien korelasi persamaan $y = a + bx$ kurva kalibrasi pada grafik 4.1 menunjukkan hasilnya memberikan respon yang linear, karena koefisien korelasi (r) yang didapat sebesar 0,9980.

Nilai koefisien korelasi baik apabila nilai 0,9900 atau lebih besar [22]. Hasil percobaan koefisien korelasi yang didapat 0,9980 atau lebih besar dari nilai r yang disarankan AOAC sehingga r yang didapatkan dari percobaan memenuhi syarat.

Pengukuran Batas Deteksi LoD dan Kuantisasi LoQ

Nifedin

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dari nifedipine dilakukan dengan variasi penimbangan 0,1017 hingga 0,9011. Berdasarkan pada persamaan regresi dari uji linearitas yaitu $y = 0,0224 + 4,3572x$, didapatkan simpangan baku 0,0746.

Didapatkan nilai batas deteksi (LoD) sebesar 0,0514 dan nilai batas kuantisasi (LoQ) sebesar 0,1712.

Nifedipine

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dari nifedipine dilakukan dengan variasi penimbangan 0,1006 hingga 0,9050. Berdasarkan pada persamaan regresi dari uji linearitas yaitu $y = 0,0979 + 0,8869x$, didapatkan simpangan baku 0,0129.

Didapatkan nilai batas deteksi (LoD) sebesar 0,0436 dan nilai batas kuantisasi (LoQ) sebesar 0,1455.

Farmalat

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dari nifedipine dilakukan dengan variasi penimbangan 0,1008 hingga 0,9012. Berdasarkan pada persamaan regresi dari uji linearitas yaitu $y = 1,0495x - 0,0138$, didapatkan simpangan baku 0,0129. Didapatkan nilai batas deteksi (LoD) sebesar 0,0532 dan nilai batas kuantisasi (LoQ) sebesar 0,1772.

Uji Recovery**Nifedin**

Berdasarkan pada percobaan yang telah dilakukan, setiap variasi berat sampel nifedin dilakukan tiga kali pengulangan. Berdasarkan pada pengulangan dicari nilai rata-rata dari berat nifedin dan rata-rata dari jumlah volume asam perklorat yang terpakai.

Berdasarkan pada persamaan regresi yang telah dicari sebelumnya pada uji linearitas didapatkan %Recovery sebagai berikut:

Tabel 4.1 %Recovery nifedipine pada obat nifedin

No.	Berat Nifedin (gram)	Volume HClO ₄ (mL)	Recovery (%)
1.	0,1017	0,46	98,82
	0,1013	0,46	99,18
	0,1004	0,46	100,02
2.	0,3021	1,32	98,60
	0,3002	1,34	100,72
	0,3010	1,32	99,22
3.	0,5029	2,2	99,39
	0,5001	2,2	99,94
	0,5007	2,2	99,81
4.	0,7002	3,18	103,47
	0,7010	3,18	104,11
	0,7001	3,16	102,83
5.	0,9011	3,88	98,26
	0,9003	3,88	98,30
	0,9017	3,88	98,20
		Rata-rata	100,06

Nifedipine (OGBdexa)

Berdasarkan pada percobaan yang telah dilakukan, setiap variasi berat sampel nifedipine dilakukan tiga kali pengulangan. Berdasarkan pada pengulangan dicari nilai rata-rata dari berat nifedipine dan rata-rata

dari jumlah volume asam perklorat yang terpakai.

Berdasarkan pada persamaan regresi yang telah dicari sebelumnya pada uji linearitas didapatkan %Recovery sebagai berikut:

Tabel 4.2 %Recovery nifedipine pada obat nifedipine

No.	Berat Nifedipine (gram)	Volume HClO ₄ (mL)	Recovery (%)
1.	0,1006	0,18	96,21
	0,1002	0,18	96,36
	0,1013	0,18	95,89
2.	0,3029	0,36	98,23
	0,3001	0,36	98,90
	0,3010	0,36	98,65
3.	0,5047	0,54	92,52
	0,5012	0,54	99,56
	0,5003	0,54	99,70
4.	0,7014	0,72	100,01
	0,7007	0,72	100,08
	0,7011	0,72	100,04
5.	0,9050	0,92	102,17
	0,9004	0,92	102,62
	0,9007	0,90	100,36
		Rata-rata	98,75

Farmalat

Berdasarkan pada percobaan yang telah dilakukan, setiap variasi berat sampel farmalat dilakukan tiga kali pengulangan. Berdasarkan pada pengulangan dicari nilai rata-rata dari berat nifedin dan rata-rata dari jumlah volume asam perklorat yang terpakai.

Berdasarkan pada persamaan regresi yang telah dicari sebelumnya pada uji linearitas didapatkan %Recovery sebagai berikut:

Tabel 4.3 %*Recovery* nifedipine pada obat farmalat

No.	Berat Farmalat (gram)	Volume HClO ₄ (mL)	Recovery (%)
1.	0,1008	0,08	87,05
	0,1001	0,10	109,53
	0,1012	0,10	108,22
2.	0,3007	0,32	106,03
	0,3013	0,32	105,82
	0,3110	0,32	102,37
3.	0,5021	0,52	101,33
	0,5001	0,50	97,83
	0,5015	0,52	101,46
4.	0,7004	0,70	97,05
	0,7010	0,70	96,97
	0,7001	0,70	97,10
5.	0,9012	0,94	100,86
	0,9008	0,94	100,90
	0,9002	0,94	100,98
		Rata-rata	100,9

Penentuan Kuantitatif Nifedin

Dari hasil analisis nifedin diperoleh berat nifedipine sebagai berikut :

Tabel 4.4 Berat *nifedipine* pada obat nifedin serta nilai standar deviasi dan %RSD

Berat nifedin (gram)	Volume HClO ₄ 0,1 N (mL)	Nifedipine (%)
0,1013	0,08	2,82
0,1020	0,08	2,80
0,1045	0,08	2,74
0,1009	0,1	2,55
0,1028	0,08	2,78
		s = 0,1090
		%RSD = 3,98%

Didapatkan nilai rata-rata kadar *nifedipine* pada obat nifedin adalah 2,74%.

Nifedipine (OGB dexa)

Dari hasil analisis obat nifedipine diperoleh berat *nifedipine* sebagai berikut:

Tabel 4.5 Berat *nifedipine* pada obat nifedipine serta nilai standar deviasi dan %RSD.

Berat OGB (gram)	Volume HClO ₄ 0,1 N (mL)	Nifedipine (%)
0,1006	0,04	1,41
0,1029	0,06	2,06
0,1013	0,04	1,40
0,1009	0,04	1,42
0,1025	0,04	1,40
		s = 0,2954
		%RSD = 19,31%

Didapatkan kadar rata-rata *nifedipine* pada obat nifedipine (OGBdexa) adalah 1,53%.

Farmalat

Dari hasil analisis farmalat diperoleh berat nifedipine sebagai berikut:

Tabel 4.6 Berat *nifedipine* pada obat farmalat serta nilai standar deviasi dan %RSD.

Berat farmalat (gram)	Volum HClO ₄ 0,1 N (mL)	Nifedipine (%)
0,1022	0,06	2,1
0,1024	0,08	2,80
0,1028	0,08	2,78
0,1004	0,08	2,85
0,1081	0,08	2,65
		s = 0,3042
		%RSD = 11,5%

Didapatkan rata-rata kadar *nifedipine* dalam obat farmalat adalah 2,64%.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada pengujian tingkat presisi, linieritas dan %*recovery* berturut-turut memiliki tingkat ketelitian yang tinggi, hubungan linier/searah dan mendekati perolehan 100%. Dari hasil analisis terhadap sampel obat-obatan yang beredar di pasaran diperoleh rata-rata kadar *nifedipine* dalam beberapa sampel adalah 2,30%, hal ini menunjukkan kedekatan dengan kadar pada kemasan.

V. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada analis-analis Laboratorium Jurusan Kimia yang turut membantu selama penelitian.

REFERENSI

1. Smeltzer, S. C., Bare B. G, buku terjemahan, **2002**, Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner dan Suddarth, 8(1), diterjemahkan oleh Agung Waluyo (dkk), EGC.
2. Chang C. A., Ochaya V. O, *Inorg Chem*, **25**, **1986**, 355-358.
3. Hendayana S, dkk, **1994**, Kimia Analitik Instrumen, Semarang: IKIP Press.
4. Tjay T. H., Raharjo K, **2002**, Obat-obat penting, Jakarta: PT elok media komputindo, 503,527.
5. Mycek M. J., Harvey, R. A., Champe C. C., **2001**, Farmakologi Ulasan Bergambar, 2, diterjemahkan oleh Azwar Agoese, Jakarta: Widya Medika, 189-190.
6. Setiawati A., Bustami Z. S., **1995**, Antihipertensi dalam Farmakologi dan Terapi, 4, Jakarta: UI Press, 329.
7. Ikhsan J., **2006**, Penentuan Reaksi Protonasi dan Deprotonasi Molekul Organik serta Konstanta Keseimbangan Reaksinya dengan Titrasi Potensiometri, *J. Peran Kimia, Pendidikan Kimia dan Industri Kimia dalam Pembangunan yang Berwawasan Lingkungan*.
8. Underwood A. L., Day R. A., **1986**, Analisa Kimia Kuantitatif, 5, Jakarta: Erlangga.
9. Cairns D., **2004**, Intisari Kimia Farmasi, 2, Penerbit: Buku Kedokteran EGC, 138-139.
10. Watson G. D., **2005**, Pharmaceutical Analysis. A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists, 2, Edinburgh London New York Philadelphia ST Louis Sydney Toronto.
11. Rajan V. R., Rohit H. T., **2011**, A validated non-aqueous potentiometric titration method for the quantitative determination of Azelnidipine from pharmaceutical preparation, *J. Chem. Pharm.Res.*, 3(3): 1-5.20122.
12. Ding L., Li L., Ma P., **2007**, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 43 (2), 575-579.
13. Dipiro J. T., **2005**, Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 6, The McGraw-Hill Company, USA.
14. Soedigdo S., Soedigdo P., **1997**, Pengantar Cara Statistika Kimia, ITB: Bandung.
15. Miller J. C., **1991**, Statistika Untuk Kimia, 2, ITB: Bandung.
16. Underwood A. L., Day R. A., **2002**, Analisis Kimia Kuantitatif, 6, Erlangga: Jakarta, Hal 214.
17. Harmita, **2004**, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah ilmu kefarmasian*, Desember, 3(1).
18. Ganjar G., Rohman, **2009**, Kimia Farmasi analisis, Yogyakarta: Pustaka pelajar.
19. Khopkar M. S., **2010**, Konsep Dasar Kimia Analitik, Jakarta: UI Press.
20. Underwood L., 1980, Analisa Kimia Kuantitatif, 4, Jakarta: Erlangga.
21. Sumardi, b, Tinjauan Umum Validasi Metode Analisis, *Pusat Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia*.
22. [AOACS] Association of Official Analytical Chemist, **2005**, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18, AOAC international: Maryland.

STUDI SPEKTROSKOPI INFRA MERAH KATALIS KOBALT (II) YANG DIAMOBILISASI PADA SILIKA MODIFIKASI

Rinal Oktaviandra^a, Admi^a, Syukri^a, dan Hermansyah Aziz^b

^a Laboratorium Kimia Material Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

^b Laboratorium Kimia Fisika Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

e-mail: admi_unand@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

A Synthetic process has been carried out for preparation of cobalt (II) grafted on modified silica and applied in transesterification reaction. First step was a modification of silica support with aniline and boron trifluoride in toluene at room temperature. An acetonitrile solution of cobalt chloride then was added with the modified silica and refluxed at 70 °C for 2 hours. Product obtained was characterized with *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR). In general it can be concluded that the grafted product showed the formation of anylinium species which then consumed during grafting process due to its reaction with cobalt cation (FTIR analysis).

Keyword: grafting, modified silica, metal loading, metal leaching, and biodiesel

I. Pendahuluan

Ketahanan transfer massa dalam katalis heterogen dalam reaksi fasa cair adalah dengan menggunakan support.³ Support dapat meningkatkan luas permukaan katalis sehingga menimbulkan pori-pori dimana logam dapat ditambatkan.⁴ Telah banyak digunakan berbagai material untuk menjadi support katalis, seperti zeolit, oksida logam dan polimer.

Permasalahan paling esensial dalam penggabungan antara katalis dengan support adalah ketahanan ikatan antara keduanya. Jika interaksinya cukup kuat maka kemungkinan terjadinya proses leaching ke pelarut akan dapat dikurangi.² Berbagai model ikatan telah dipaparkan antara lain interaksi elektrostatis, kovalen dan koordinatif.³ Pada penelitian ini kami mempelajari interaksi antara ion Cu^{2+} dengan supportnya yang merupakan silika yang telah dimodifikasi dengan aniline dan boron triflorida.

II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan Kimia, Peralatan dan Instrumentasi

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah beberapa peralatan gelas, magnetic stirrer, kondensor, neraca analitis, oven, corong Buchner, desikator, dan corong pisah dan

gloves. Instrumen yang digunakan adalah *Fourier Transform Infra-Red* (Spektrofotometer Infrared FT-IR Perkin Elmer 1600 series).

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1. Sintesis Silika Modifikasi

Silika gel dimodifikasi dengan cara menambahkan Boron Triflorida (asam lewis) dan anilin (basa bronsted). Silika terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 200°C untuk mengaktifkan permukaan silika dan melepaskan pengotor. Kemudian 10 gram Silika Gel tersebut ditambahkan 1,1 mL anilin dalam 25 mL toluene dengan rasio rasio molar anilin : $\text{Si-OH} = 1,2 : 1$. Campuran distirrer pada temperatur ruang selama 24 jam dengan kecepatan 300 rpm sehingga terbentuk suspensi silika-anilin. Kemudian ditambahkan BF_3 dengan perbandingan molar BF_3 : $\text{Si-OH} = 1,2 : 1$ dan distirrer pada temperatur ruang dengan kecepatan 300 rpm selama 24 jam. Suspensi yang terbentuk kemudian disaring, dicuci dengan toluen dan dikeringkan dalam desikator sehingga terbentuk silika modifikasi. Keberhasilan proses modifikasi diuji dengan FT-IR.

2.2.2. Sintesis Co (II) yang diamobilisasi pada Silika Modifikasi

Kobalt (II) klorida heksa hidrat dipanaskan pada suhu 170 °C sampai semua hidratnya

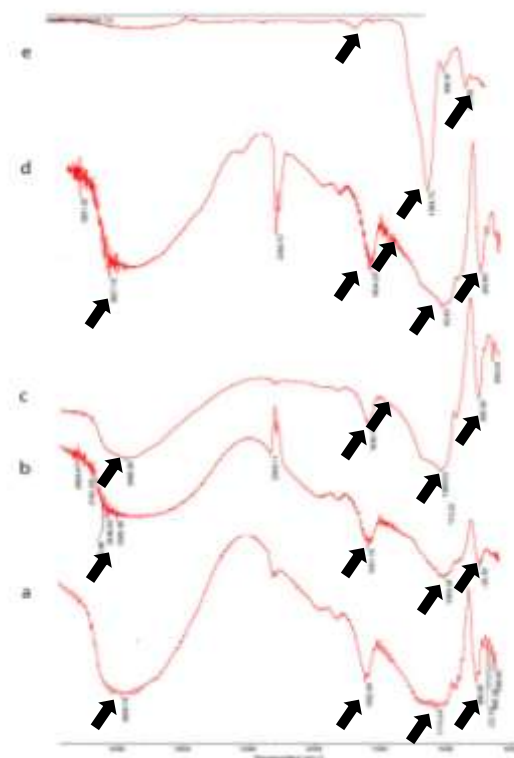
hilang kemudian dicampurkan dengan silika modifikasi dengan perbandingan mol $\text{Si-OH} : \text{CoCl}_2$ adalah 1: 1,2. Silika modifikasi 2,42 g, CoCl_2 0,259 g dan 10 mL asetonitril dicampurkan secara bersamaan dalam labu alas bulat dan direfluks sambil distirrer dengan kecepatan 300 rpm selama 2 jam pada temperatur 60 °C. Suspensi yang terbentuk dicuci dengan asetonitril dan dikeringkan. Filtrate yang dihasilkan diuji dengan AAS untuk menentukan persen metal loading. Keberhasilan proses Amobilisasi dilihat dari karakterisasi FT-IR.

3. Hasil dan Pembahasan

Analisis menggunakan FT-IR terhadap sampel bertujuan untuk mengetahui pita serapan gugus fungsi dari silika dan katalis yang dihasilkan. Spektrum FT- IR ditunjukkan pada Gambar 1. Pita serapan utama yang menunjukkan gugus fungsi pada silika adalah pada angka gelombang 1130 -1000 cm^{-1} yang merupakan pita serapan spesifik dari Si-O-Si asymmetric stretching dan pada angka gelombang 3700-3200 cm^{-1} adalah pita serapan spesifik -O-H stretching dari silanol. Berdasarkan Gambar 4.1a - 4.1d menunjukkan pita serapan pada angka gelombang 3508 cm^{-1} , 3565 cm^{-1} , 3486 cm^{-1} dan 3627 cm^{-1} yang mengindikasikan vibrasi -O-H stretching dari gugus silanol. Pita serapan pada angka gelombang 1113 cm^{-1} , 1065 cm^{-1} , 1089 cm^{-1} dan 1092 cm^{-1} mengindikasikan vibrasi Si-O-Si asymmetric stretching. Pita serapan pada bilangan gelombang 1652 cm^{-1} , 1651 cm^{-1} , 1636 cm^{-1} dan 1634 cm^{-1} mengindikasikan vibrasi H-O-H bending yang berasal dari molekul air yang terserap. Keberhasilan dari proses aktivasi silika dibuktikan dengan adanya penurunan intensitas serapan gugus silanol dari Gambar 1.a ke 1.b . Dimana jumlah gugus silanol akan berkurang dengan adanya pemanasan. Hal lain yang membuktikan adalah bergesernya pita serapan ke angka gelombang yang lebih kecil dari 1113 cm^{-1} menjadi 1065 cm^{-1} . Pergeseran ini menunjukkan semakin mudahnya vibrasi pada kerangka Si-O-Si yang disebabkan oleh berkurangnya gugus silanol.⁶

Keberhasilan proses modifikasi silika dibuktikan dengan munculnya puncak baru pada angka gelombang 800,69 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi ulur dari B-O-Si. Pita serapan B-O-Si akan muncul dengan melemahnya pita serapan Si-OH, Si-O-Si, dan

Si-O. Adanya vibrasi dari B-O-Si membuktikan bahwa permukaan silika telah membentuk $[\text{Si-O-BF}_3]^-$ yang dapat bereaksi dengan kompleks Co(II)-asetonitril yang akan di grafting. Munculnya puncak CN stretching dari anilin pada angka gelombang 1493 cm^{-1} juga membuktikan keberhasilan dari modifikasi silika.⁵



Gambar 1. Spektra FT-IR dari; (a) silika murni; (b) silika aktivasi; (c) silika-anilin; (d) silika modifikasi; dan (e) katalis heterogen Co

Spektrum dari katalis heterogen yang didapatkan menunjukkan hilangnya puncak gugus silanol stretching dan gugus H-O-H bending. Hilangnya gugus silanol mengindikasikan telah terjadi pergantian gugus silanol dengan ion dari logam kobalt. Keberhasilan proses amobilisasi juga ditunjukkan dengan bergesernya puncak Si-O-Si asymmetric stretching dari angka gelombang 1092 cm^{-1} menjadi 1084 cm^{-1} . Keberhasilan proses amobilisasi kompleks pada support silika modifikasi juga ditandai dengan berkurangnya intensitas pita serapan pada daerah 793 cm^{-1} yang berasal dari Si-OH bending. Penurunan intensitas dari Si-OH bending mengindikasikan bahwa telah terjadi interaksi permukaan gugus silanol dengan

logam Co(II). Hal yang juga penting dicatat bahwa stretching CN asetonitril ternyata sama sekali tidak muncul sehingga diasumsikan bahwa ion Co^{2+} tergrafting pada permukaan silika modifikasi tidak dalam bentuknya sebagai kompleks Co(II) asetonitril melainkan sebagai kation tunggal.

4. Kesimpulan

Proses grafting kobal(II) pada silika yang telah dimodifikasi dengan aniline dan boron triflorida telah dipelajari dengan spektroskopi infra merah. Karakterisasi dengan FTIR memberikan petunjuk bahwa kobal dalam bentuk ion Co^{2+} yang telah terikat pada permukaan silika modifikasi, dan bukan sebagai ion kompleks kobal(II)-asetonitril.

3. Ucapan terima kasih

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

Referensi

1. Simon, K. Y., Salley, S. O., Kim, M., and Yan, S., **2009**, Oil Transesterification Over Calcium Oxide Modified With Lanthanum. *Applied Catalyst A General*, 360, 163-170.
2. Syukri, **2006**, Sintesis, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Katalitik Hibrid $\text{SiO}_2\text{-Ni-Co}$, Skripsi Fakultas MIPA Universitas Andalas.
3. Syukri, S., Ahmed, K., Hijazi., Ayyamperumal, S., Akef, L., Hmaideen, A., Fritz, E, **2006**, Heterogenization of Solvent-Ligated Copper(II) Complexes on Poly(4-vinylpyridine) for the catalyticCyclopronation of Olefin, *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 360, hal. 197.
4. Canakci, M., and Gerpen, J. V., **2001**, Biodisel Production From Oils And Fats With High Free Fatty Acid, *Trans, ASAE*, 42, 1203-1210.
5. Meijboom, R., Jalama, K., Muzenda, E., Mukenga, M., **2012**, Biodiesel Production from Sotbean Oil over TiO_2 supported nano-ZnO, *World Academy of Science, E and T*, 949-953.
6. Fujiwara, Sergio, T., Gushikem, Y., 1999, Cobalt(II) phthalocyanine Bonded to 3-n-propylimidazole Immobilized on Silica Gel Surface: Preparation and Electrochemical Properties, *J. Braz, Chem*, 10, 5, 389-393.
7. Pratikha, S. R., Syukri, Admi., **2013**, Synthesis and characterization of acetonitrile ligated Cu(II)-Complex and its catalytic application for tranesterification of frying oil in heterogeneous phase, *Indo, J. Chem*, 13, 1, 72-76
8. Stuart, B., **2004**, Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications. *John Wiley and Sons, Ltd.*

DEGRADASI TOLUIDINE BLUE SECARA SONOLISIS, FOTOLISIS, DAN OZONOLISIS DENGAN MENGGUNAKAN KATALIS ZnO/ZEOLIT

Listria Riamayora Debataraja, Zilfa, dan Safni*

Laboratorium Kimia Analisis Terapan Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

*email : safni@yahoo.com

Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstract

Degradation of *Toluidine Blue* with the addition of ZnO/Zeolit had been carried out by Sonolysis, Photolysis and Ozonolysis. The degraded solution measured using Spectrophotometer UV-Vis and HPLC at a wavelength of 612 nm. It was found that for, 100 minutes sonolysis of 12 mg/L *Toluidine Blue* using ultrasonic radiation with frequency of 50 kHz, at temperature 30°C and with the addition of 4.0 mg ZnO/Zeolit the compound was decomposed to 91.2%. In other case, photolysis method using UV light irradiation ($\lambda=365$ nm) it was result 96.4% degradation in the same duration process. Ozonolysis method in the degradation of *Toluidine blue* was faster than the one with photolysis and sonolysis. In HPLC analysis showed that the peak of the chromatogram of *Toluidine blue* decrease clearly.

Keywords : *Toluidine blue*, Sonolysis, Photolysis, Ozonolysis, ZnO/Zeolit

I. Pendahuluan

Toluidine blue merupakan salah satu zat warna organik aromatik dan biasanya digunakan pada proses skrining yaitu suatu prosedur untuk dapat menemukan kanker rongga mulut dalam stadium dini, terutama sebelum menimbulkan gejala klinis.¹ *Toluidine blue* juga digunakan sebagai pewarna jaringan, seperti untuk memprediksi kondisi DNA spermatozoa secara tidak langsung berdasarkan struktur kromatin yang dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan *toluidine blue*.² *Toluidine blue* ini sering digunakan di rumah sakit dan menghasilkan limbah cair. Walaupun larutan *Toluidine blue* yang digunakan dalam jumlah yang sedikit namun jika digunakan secara terus menerus akan menimbulkan masalah yang serius. Senyawa zat warna ini tidak dapat dianggap remeh karena bersifat mutagen, karsinogenik serta dapat membahayakan kesehatan. Oleh karena zat warna ini merupakan senyawa

yang sangat stabil maka akan menimbulkan masalah jika dilepas ke lingkungan.

Limbah cair yang mengandung *Toluidine blue* yang berasal dari limbah rumah sakit merupakan salah satu sumber pencemaran air yang sangat potensial. Untuk rumah sakit dengan kapasitas yang besar umumnya dapat membangun unit alat pengolah air limbahnya sendiri karena mempunyai dana yang cukup. Akan tetapi untuk rumah sakit tipe kecil sampai dengan tipe sedang umumnya sampai saat ini masih membuang air limbahnya ke saluran umum tanpa pengolahan sama sekali. Untuk pengolahan air limbah rumah sakit dengan kapasitas yang besar, umumnya menggunakan teknologi pengolahan air limbah "lumpur aktif" atau *Activated Sludge Process*, tetapi untuk kapasitas kecil cara tersebut kurang ekonomis karena biaya operasinya cukup besar.

Perlakuan terhadap limbah yang mengandung pewarna dengan metode konvensional, seperti flokulasi dan adsorpsi karbon aktif tidak efektif dalam menghilangkan warna limbah karena zat warnanya sulit untuk didegradasi dengan proses ini. Pada penelitian ini, dilakukan degradasi *toluidine blue* secara sonolisis dengan menggunakan getaran ultrasonik dengan frekuensi 50 kHz, secara fotolisis dengan menggunakan cahaya lampu UV ($\lambda=365$ nm) dan secara ozonolisis dengan menggunakan ozon (O_3). Radikal hidroksil yang dihasilkan akan mendekomposisi *toluidine blue* menjadi senyawa lain yang lebih sederhana. Metode sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis sudah pernah digunakan untuk degradasi beberapa zat warna, seperti *Rhodamin B*, *Naphthol Blue Black*, *Methanil Yellow*, *Sudan I*, *Alizarin S*, *Indigo Carmine*, dan *Methylene Blue*.³⁻¹¹ Pada penelitian ini untuk mempercepat proses degradasi akan ditambahkan ZnO/Zeolit sebagai katalis. ZnO telah banyak digunakan sebagai katalis dalam proses degradasi¹⁰ begitu juga dengan zeolit.¹²

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan degradasi *Toluidine blue* oleh Ameta,dkk dengan metode sonolisis, fotokatalisis, dan sonofotokatalisis menggunakan ZnO sebagai katalis. Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa *Toluidine blue* dapat terdegradasi jauh lebih cepat pada metode sonofotokatalisis dibandingkan dengan metode sonolisis dan fotolisis saja.¹³ Sejauh ini belum ada laporan penelitian degradasi *Toluidine blue* yang menggunakan ZnO/Zeolit sebagai katalis.

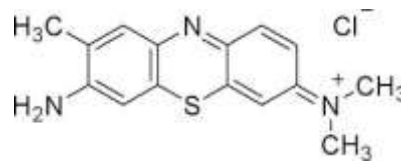
II. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Toluidine blue* bubuk (Merck, BM = 305,83 g/mol), Zeolit alam, ZnO (Merck), $AgNO_3$ (Merck), NaCl (Merck), akuades, Akuabides, dan Asetonitril.

Alat-alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Jepang), Ultrasonik (Kerry Pulsatron Sonics, Inggris frekuensi 50 kHz), Lampu UV (Germicidal CE G 13 Base 8FC11004, $\lambda = 365$ nm, 10 watt), Kotak Iradiasi, Ozone Maker (Hanaco), HPLC (Shimadzu, Jepang), Neraca analitik (Kern ALJ 220-4M), Sentrifus (Health

H-C-12 centrifuge), Termometer dan peralatan gelas.



Gambar 1. Struktur *Toluidine blue*

2.2. Prosedur penelitian

Preparasi ZnO/Zeolit

Zeolit alam diayak dengan pengayakan ukuran 250 mesh. Kemudian dicuci dengan akudes, disaring dan dikeringkan dengan oven pada 100°C. Sebanyak 68 g zeolit kering dijenuhkan dengan NaCl 0,1M sambil diaduk selama 5 jam kemudian dicuci dengan akuades. Hasil Penjenuhan ini disaring dan dicuci guna menghilangkan Cl filtratnya di tes dengan $AgNO_3$. Hasil dari pencucian merupakan Na-zeolit dan kemudian didispersikan kedalam akuades dan ditambahkan 8,5 g ZnO secara perlahan sambil diaduk selama 5 jam. Campuran ini disaring dan dioven pada suhu 100°C. Setelah kering diayak dengan menggunakan ayakan 100 mesh. Kemudian dikalsinasi dengan furnace pada suhu 400°C selama 24 jam.¹⁴

Penentuan Serapan Maksimum *Toluidine blue*

Sebanyak 0,1000 g *Toluidine blue* bubuk dilarutkan dalam 100 mL akuades untuk mendapatkan larutan induk *Toluidine blue* 1000 mg/L. Kemudian dibuat sederetan konsentrasi *Toluidine blue* yaitu 8, 10, 12, 14, dan 16 mg/L dengan pelarut akuades. Pengukuran panjang gelombang serapan maksimum *Toluidine blue* dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300-700 nm dan diperoleh λ_{maks} 612 nm.

Proses Degradasi

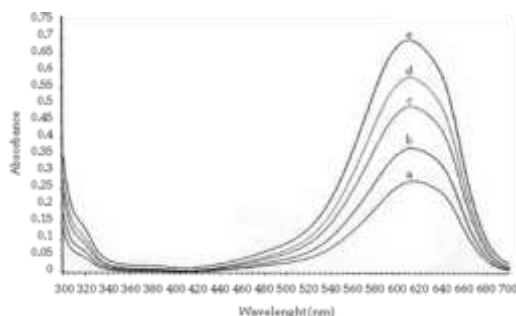
Larutan *Toluidine blue* dengan konsentrasi 12 mg/L sebanyak 20 mL dilakukan sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis secara terpisah dengan beberapa variasi yaitu; suhu, berat katalis dan waktu perlakuan tanpa dan dengan penambahan 4,0 mg katalis ZnO/Zeolit.

Hasil sonolisis, fotolisis dan ozonolisis disentrifus selama 10 menit untuk memisahkan ZnO/Zeolit dari larutan. Adanya perbedaan serapan awal dengan serapan setelah sonolisis, fotolisis maupun ozonolisis yang dideteksi dengan spektrofotometer UV/Vis menunjukkan adanya senyawa *Toluidine blue* yang telah terdegradasi. Larutan sisa degradasi *Toluidine blue* pada kondisi pendegradasian optimum dianalisis dengan HPLC.

III. Hasil dan Pembahasan

Pengukuran spektrum serapan *Toluidine blue*

Pengukuran spektrum serapan *Toluidine blue* dengan spektrofotometer UV-Vis terhadap variasi konsentrasi menunjukkan serapan maksimum *Toluidine blue* pada panjang gelombang 612 nm. Hasil spektrum serapan *Toluidine blue* pada beberapa variasi konsentrasi dapat diamati pada Gambar 2. Dari spektrum dapat dilihat bahwa kenaikan konsentrasi berbanding lurus dengan kenaikan absorban serapan dari senyawa *Toluidine blue*. Hal ini juga menunjukkan bahwa terdapat kelinearan dari serapan senyawa *Toluidine blue*.

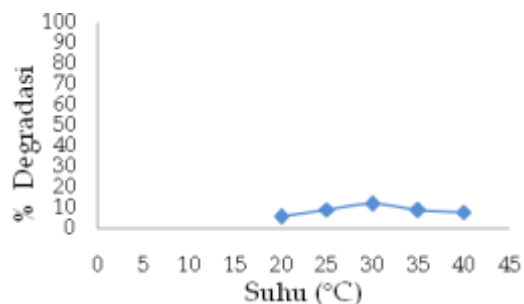


Gambar 2. Spektrum serapan *Toluidine blue* pada variasi konsentrasi (a) = 8 mg/L, (b) = 10 mg/L, (c) = 12 mg/L, (d) = 14 mg/L, dan (e) = 16 mg/L.

Pengaruh Suhu Pada Proses Sonolisis

Pengaruh suhu terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L sebanyak 20 mL dilakukan pada suhu 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, dan 40°C selama waktu iradiasi 40 menit. Dari Gambar 3 terlihat bahwa suhu optimum degradasi *Toluidine blue* adalah 30°C, dimana setelah 40 menit sonolisis

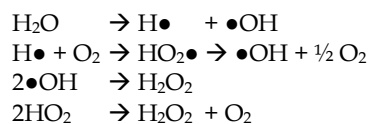
persentase degradasi sebesar 11,82%. Suhu 30°C merupakan suhu yang paling optimal untuk membentuk kavitasasi dan juga merupakan kondisi yang bagus untuk proses degradasi *Toluidine blue* sebelum ditambahkan katalis. Secara umum dengan kenaikan suhu, kecepatan reaksi juga meningkat. Suhu yang cukup tinggi akan membentuk banyak kavitasasi yang dapat memecah molekul air menjadi radikal hidrogen dan radikal hidroksil.⁹



Gambar 3. Kurva pengaruh suhu sonolisis *Toluidine blue* 12 mg/L selama 40 menit terhadap persentase degradasi.

Penurunan persentase degradasi *Toluidine blue* pada suhu yang lebih tinggi terjadi karena semakin cepatnya penggabungan radikal OH menjadi H₂O₂. Senyawa H₂O₂ mengurangi radikal hidroksil yang mendegradasi *Toluidine blue* dengan reaksi pembentukan peroksida. Di samping itu, pada suhu yang tinggi efek kavitasasi dari ultrasonik menjadi lemah karena gelembung yang dihasilkan sangat kecil dan telah menguap dari larutan sebelum mengalami pertumbuhan dan akhirnya pecah karena iradiasi ultrasonik.

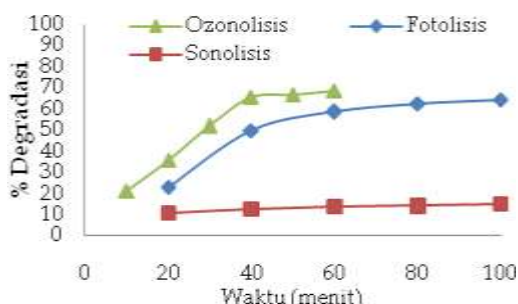
Reaksi pembentukan peroksida :¹⁵



Pengaruh Waktu Degradasi *Toluidine Blue* secara Sonolisis, Fotolisis, dan Ozonolisis tanpa Penambahan Katalis

Degradasi *Toluidine blue* dengan konsentrasi 12 mg/L sebanyak 20 mL secara sonolisis dilakukan pada suhu 30°C dan secara fotolisis selama 100 menit dengan interval waktu 20 menit, dan secara ozonolisis selama 60 menit dengan interval waktu 10 menit tanpa penambahan katalis. Gambar 4 menunjukkan peningkatan persentase

degradasi *Toluidine blue* dengan bertambahnya waktu degradasi, karena semakin banyak $\cdot\text{OH}$ yang terbentuk untuk mendegradasi *Toluidine blue*.

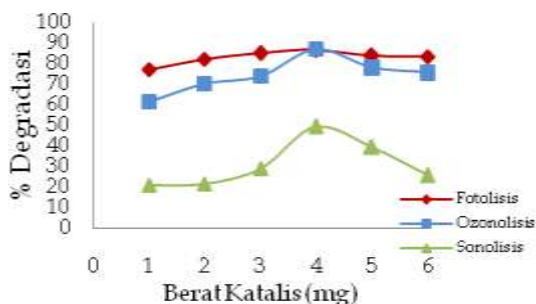


Gambar 4. Kurva pengaruh waktu terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis pada suhu 30°C, secara fotolisis, dan ozonolisis tanpa penambahan katalis

Sonolisis *Toluidine blue* 12 mg/L pada suhu 30°C selama 100 menit tanpa penambahan katalis diperoleh persentase degradasi 15,09%. Secara fotolisis diperoleh persentase degradasi sebesar 64,38% dengan waktu yang sama. Sedangkan secara ozonolisis persentase degradasi mencapai 68,61% selama 60 menit tanpa penambahan katalis.

Pengaruh Berat Katalis ZnO/Zeolit terhadap Degradasi *Toluidine Blue* secara Sonolisis, Fotolisis, dan Ozonolisis

Pengaruh variasi berat katalis ZnO/Zeolit terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L sebanyak 20 mL secara sonolisis pada suhu 30°C, secara fotolisis, dan ozonolisis dapat dilihat pada Gambar 5. Pengaruh variasi berat katalis ZnO/Zeolit ini dilakukan dengan variasi berat 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 dan 6,0 mg.



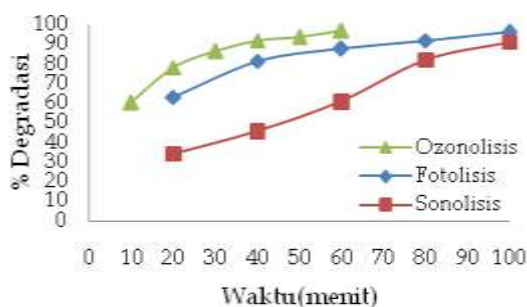
Gambar 5. Kurva pengaruh berat ZnO/Zeolit terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis pada suhu 30°C selama 40

menit, fotolisis selama 80 menit, dan ozonolisis selama 40 menit.

Pengaruh berat katalis terhadap degradasi *Toluidine blue* secara sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis menunjukkan bahwa persentase degradasi *Toluidine blue* meningkat dengan bertambahnya berat katalis ZnO/Zeolit. Kenaikan persentase degradasi ini dapat dikaitkan dengan luas permukaan dari katalis yang membantu memperbanyak radikal $\text{OH}^{\cdot}$. Namun setelah batas tertentu (4,0 mg) terjadi penurunan persentase degradasi. Hal ini disebabkan karena terjadinya kejenuhan larutan oleh ZnO/Zeolit yang mengakibatkan kenaikan pembacaan absorban dan mengakibatkan penurunan persentase degradasi. Selain itu dapat disebabkan karena pada konsentrasi yang lebih besar aktifitas fotokatalitik tidak maksimal. Dari Gambar 5 terlihat bahwa berat katalis optimum degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis adalah pada 4,0 mg dengan persentase degradasi sebesar 49,56% secara sonolisis, 86,52% secara fotolisis dan 87,32% secara ozonolisis.

Pengaruh waktu terhadap Degradasi *Toluidine Blue* secara Sonolisis, Fotolisis, dan Ozonolisis dengan penambahan ZnO/Zeolit

Degradasi *Toluidine blue* dengan konsentrasi 12 mg/L sebanyak 20 mL secara sonolisis dilakukan pada suhu 30°C dan secara fotolisis selama 100 menit dengan interval waktu 20 menit, dan secara ozonolisis selama 60 menit dengan interval waktu 10 menit dengan penambahan 4,0 mg ZnO/Zeolit. Gambar 6 menunjukkan bahwa persentase degradasi *Toluidine blue* meningkat dengan bertambahnya waktu degradasi. Peningkatan persentase degradasi *Toluidine blue* dengan penambahan 4,0 mg ZnO/Zeolit terjadi karena adanya pembentukan radikal OH pada permukaan ZnO dan ditambah dengan adanya support dari zeolit sehingga radikal OH yang dihasilkan semakin banyak. Jumlah radikal OH yang semakin banyak akan mengakibatkan persentase degradasi *Toluidine blue* semakin meningkat. Dimana radikal OH tersebut menyerang ikatan pada senyawa-senyawa organik dalam media air, sehingga senyawa organik tersebut yang pada awalnya bersifat *toxic* menjadi ramah lingkungan (menghasilkan CO_2 dan H_2O).



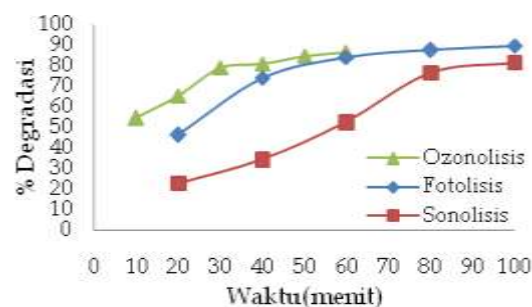
Gambar 6. Kurva pengaruh waktu terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis pada suhu 30°C, secara fotolisis, dan ozonolisis dengan penambahan katalis ZnO/Zeolit

Sonolisis *Toluidine blue* 12 mg/L pada suhu 30°C selama 100 menit dengan penambahan 4,0 mg ZnO/Zeolit diperoleh persentase degradasi 91,15%. Secara fotolisis diperoleh persentase degradasi sebesar 96,38% dengan waktu yang sama. Sedangkan secara ozonolisis persentase degradasi mencapai 96,78% selama 60 menit dengan penambahan katalis ZnO/Zeolit. Perbedaan persentase degradasi antara tanpa penambahan katalis dan dengan penambahan ZnO/Zeolit memperlihatkan keefektifan ZnO/Zeolit sebagai katalis yang berfungsi untuk mempercepat proses degradasi *Toluidine blue*.

Pengaruh waktu terhadap Degradasi *Toluidine Blue* secara Sonolisis, Fotolisis, dan Ozonolisis dengan penambahan Zeolit

Degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis dilakukan pada suhu 30°C dan secara fotolisis selama 100 menit dengan interval waktu 20 menit, dan secara ozonolisis selama 60 menit dengan interval waktu 10 menit dengan penambahan 4,0 mg Zeolit. Pengaruh waktu degradasi dengan penambahan Zeolit dapat dilihat pada Gambar 7.

Pada Gambar 7 memperlihatkan bahwa terjadi kenaikan persentase degradasi dengan bertambahnya waktu dengan adanya katalis Zeolit. Secara sonolisis pada suhu 30°C diperoleh persentase degradasi sebesar 81,69% selama 100 menit. Secara fotolisis dengan waktu yang sama diperoleh persentase degradasi sebesar 89,74%. Sedangkan secara ozonolisis persentase degradasi mencapai 86,72% selama 60 menit.



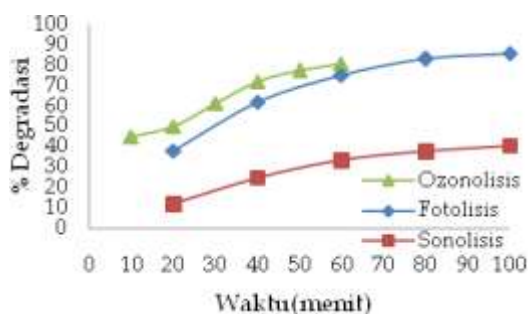
Gambar 7. Kurva pengaruh waktu terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis dengan penambahan katalis Zeolit

Tujuan penambahan katalis Zeolit ini yaitu untuk membandingkan pengaruh ZnO/Zeolit dengan Zeolit dalam membantu proses degradasi senyawa *Toluidine blue*. Pada penambahan Zeolit persentase degradasi yang didapatkan lebih besar dibandingkan ZnO karena zeolit merupakan katalis termal dan bersifat sebagai adsorben. Pada proses degradasi *Toluidine blue* ini zeolit menyerap molekul-molekul zat warna dan kemungkinan tidak terjadi proses degradasi karena hanya warna molekul dari *Toluidine blue* yang terserap.

Pengaruh waktu terhadap Degradasi *Toluidine Blue* secara Sonolisis, Fotolisis, dan Ozonolisis dengan penambahan ZnO

Degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis dilakukan pada suhu 30°C dan secara fotolisis selama 100 menit dengan interval waktu 20 menit, dan secara ozonolisis selama 60 menit dengan interval waktu 10 menit dengan penambahan 4,0 mg ZnO. Pengaruh waktu degradasi dengan penambahan ZnO dapat dilihat pada Gambar 8.

Pada Gambar 8 memperlihatkan bahwa terjadi kenaikan persentase degradasi dengan bertambahnya waktu dengan adanya katalis ZnO. Secara sonolisis pada suhu 30°C diperoleh persentase degradasi sebesar 40,44% selama 100 menit. Secara fotolisis dengan waktu yang sama diperoleh persentase degradasi sebesar 85,91%. Sedangkan secara ozonolisis persentase degradasi mencapai 80,68% selama 60 menit.



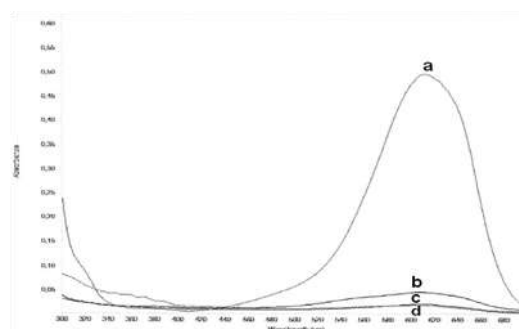
Gambar 8. Kurva pengaruh waktu terhadap persentase degradasi *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis dengan penambahan katalis ZnO

Tujuan penambahan katalis ZnO ini untuk membandingkan pengaruh ZnO/Zeolit dengan ZnO dalam membantu proses degradasi senyawa *Toluidine blue*. Dengan penambahan ZnO didapatkan persentase degradasi yang lebih kecil dibandingkan dengan penambahan Zeolit dan ZnO/Zeolit, tetapi masih lebih besar dari persentase degradasi tanpa penambahan katalis. Hal ini disebabkan karena pada penambahan ZnO terjadi penumpukan selama proses degradasi tetapi terjadi proses mineralisasi.

Analisis larutan sisa degradasi *Toluidine Blue* secara Sonolisis, Fotolisis dan Ozonolisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan HPLC

Analisis larutan sisa degradasi zat warna *Toluidine blue* secara sonolisis, fotolisis, dan ozonolisis dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan HPLC. Pengukuran spektrum serapan *Toluidine blue* 12 mg/L dilakukan pada kondisi optimum pendegradasian. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300-700 nm. Gambar 9 memperlihatkan bahwa terjadi penurunan puncak spektrum serapan setelah dilakukannya degradasi. Penurunan yang sangat nyata terjadi pada spektrum serapan setelah degradasi secara ozonolisis. Hal ini disebabkan karena energi yang dihasilkan dari metode ini lebih besar. Pada metode sonolisis menggunakan getaran ultrasonik dari alat ultrasonik dengan frekuensi 50 kHz, secara fotolisis menggunakan cahaya dari lampu UV dengan panjang gelombang 365 nm, sedangkan secara ozonolisis digunakan reaktor ozon untuk menghasilkan ozon (O_3).

Hal ini juga sesuai dengan persentase degradasi yang didapatkan, dimana setelah sonolisis didapatkan persentase degradasi sebesar 91,15%, setelah fotolisis sebesar 96,38% selama 100 menit, dan setelah ozonolisis mencapai 96,78% selama 60 menit. Penurunan absorbansi ini disebabkan karena terjadi proses mineralisasi terhadap senyawa *Toluidine blue* selama proses degradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana dan terjadi penurunan konsentrasi *Toluidine blue* setelah didegradasi.

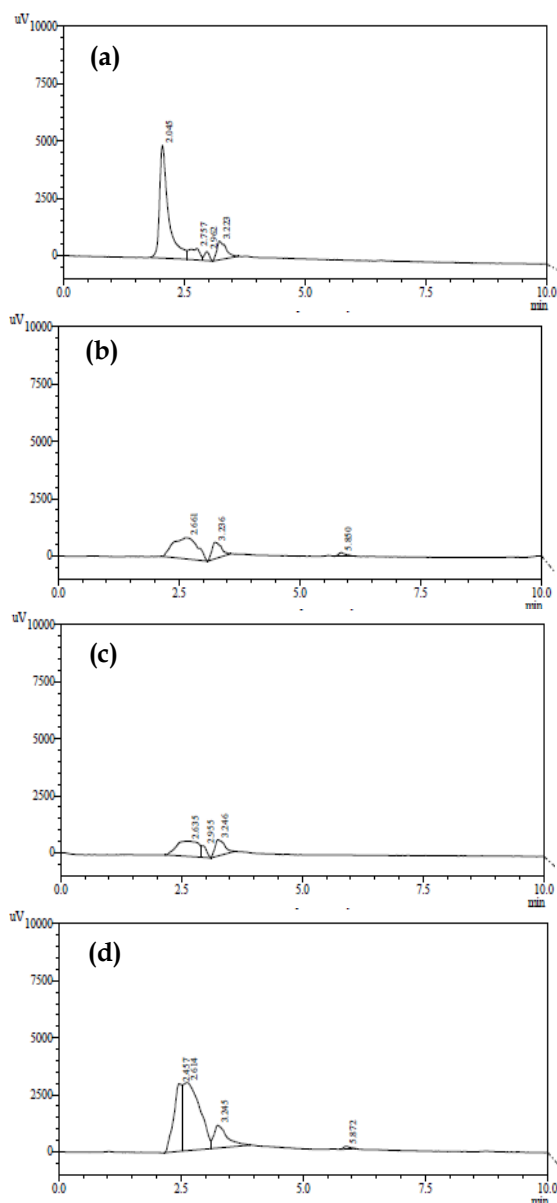


Gambar 9. Spektrum serapan *Toluidine blue* 12 mg/L (a) sebelum degradasi, (b) setelah sonolisis pada suhu 30°C, (c) setelah fotolisis selama 100 menit, dan (d) setelah ozonolisis selama 60 menit dengan penambahan 4,0 mg ZnO/Zeolit

Analisis larutan sisa degradasi dengan menggunakan HPLC juga dilakukan pada kondisi optimum pendegradasian. Gambar 10 memperlihatkan kromatogram hasil degradasi *Toluidine blue* sebelum dan setelah degradasi yang dideteksi dengan menggunakan HPLC.

Dari Gambar 10 dapat dilihat bahwa puncak kromatogram senyawa *Toluidine blue* muncul pada waktu retensi 2,045 menit pada gambar (a). Selanjutnya setelah didegradasi dengan metode sonolisis pada suhu 30°C selama 100 menit menggunakan katalis ZnO/Zeolit sebanyak 4,0 mg menunjukkan penurunan senyawa *Toluidine blue* dan membentuk puncak-puncak baru yang diasumsikan sebagai intermediat dari *Toluidine blue* yang terlihat pada gambar (b). Degradasi menggunakan metode fotolisis selama 100 menit dengan penambahan 4,0 mg katalis ZnO/Zeolit juga menunjukkan terjadinya penurunan puncak senyawa *Toluidine blue*

dan terbentuk puncak baru yang lebih banyak dibandingkan dengan setelah di degradasi secara sonolisis yang terlihat pada gambar (c). Begitu juga dengan menggunakan metode ozonolisis selama 60 menit dengan menggunakan katalis ZnO/Zeolit sebanyak 4,0 mg.



Gambar 10. Kromatogram HPLC *Toluidine blue* 12 mg/L (a) sebelum degradasi, (b) setelah sonolisis pada suhu 30°C, (c) setelah fotolisis selama 100 menit, dan (d) setelah ozonolisis selama 60 menit dengan penambahan 4,0 mg ZnO/Zeolit. Kolom C₁₈ (250 × 4,6 mm), asetronitril : air (40:60), laju alir 1,0 mL/menit dan volume injeksi 20 µL

Pada kromatogram setelah didegradasi secara ozonolisis terlihat bahwa terjadi penurunan puncak senyawa *Toluidine blue* dan muncul puncak-puncak baru dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan setelah didegradasi secara fotolisis yang terlihat pada gambar (d). Hal ini sesuai dengan persentase degradasi yang didapatkan, dimana setelah ozonolisis didapatkan persentase degradasi yang lebih besar dibandingkan setelah fotolisis dan sonolisis.

IV. Kesimpulan

Degradasi zat warna *Toluidine blue* 12 mg/L secara sonolisis optimum pada suhu 30°C dan persentase degradasi yang diperoleh sebesar 91,15% selama 100 menit sonolisis dengan penambahan 4,0 mg ZnO/Zeolit. Dengan perlakuan yang sama didapatkan persentase degradasi sebesar 96,38% secara fotolisis. Sementara dengan metode ozonolisis persentase degradasi mencapai 96,78 % selama 60 menit ozonolisis. Hal ini memperlihatkan bahwa metode ozonolisis lebih cepat mendegradasi *Toluidine blue* jika dibandingkan dengan metode fotolisis dan sonolisis. Hasil deteksi menggunakan HPLC menunjukkan terjadinya penurunan puncak senyawa *Toluidine blue* setelah didegradasi dan membentuk puncak-puncak baru.

V. Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini, yaitu pada Program Kreativitas Mahasiswa 2013.

Referensi

1. Laksmi, W L. K., Setiawan, I. G., Maliawan, S., Menekan Angka Mortalitas Kanker Rongga Mulut Melalui Skrining, *Bagian/SMF Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar*.
2. Saili. T., Prasetyaningtyas, W. E., Setiadi, M. A., Agungpriyono, S., Boediono, A., 2006, Status DNA Spermatozoa Domba Setelah Proses Pengeringbekuan, *JITV*, Vol. 11, No. 3, 215-221.

- 3 Arief. S., Safni, Roza, P. P., **2007**, Degradasi Senyawa *Rhodamin B* Secara Sonolisis Dengan Penambahan TiO_2 Hasil Sintesa Melalui Proses Sol-Gel, *J. Ris. Kim*, Vol. 1, No. 1, 64-70.
- 4 Safni, Puteri, T. N. H., dan Suryani, H., **2008**, Degradasi Zat Warna *Rhodamin-B* Secara Sonolisis dan Fotolisis dengan Penambahan TiO_2 -Anatase, *Jurnal Sains. Tek. Far*, Vol. 13, No. 1, 38-42.
- 5 Safni, Maizatisna, Zulfarman, dan Sakai, T., **2007**, Degradasi Zat Warna *Naphtol Blue Black* Secara Sonolisis dan Fotolisis dengan Penambahan TiO_2 -Anatase, *J. Ris. Kim*, Vol. 1, No. 1, 43-49.
- 6 Safni, Sari, F., Maizatisna, Zulfarman, **2009**, Degradasi Zat Warna *Methanil Yellow* Secara Sonolisis dan Fotolisis dengan Penambahan TiO_2 Anatase, *Journal Sains Materi Indonesia*, Vol. 11, No. 1, 47-51.
- 7 Safni, Loekman, U., Febrianti, F., Maizatisna, Sakai, T., **2008**, Degradasi Zat Warna *Sudan I* Secara Sonolisis dan Fotolisis dengan Penambahan TiO_2 -Anatase, *J. Ris Kimia*, Vol. 2, No. 1, 163-169.
- 8 Wijaya, K., Sugiharto, E., Tahir, I. F. I., Rudatiningsih, **2006**, Fotodegradasi Zar Warna *Alizarin S* Menggunakan TiO_2 -Zeolit dan Sinar UV, *Indo. J. Chem*, Vol. 6, No. 1, 32-37.
- 9 Safni, Zuki, Z., Haryati, C., Maizatisna, Sakai, S., **2008**, Degradasi Senyawa *Alizarin-S* Secara Sonolisis dan Fotolisis dengan Penambahan TiO_2 -Anatase, *J. Pilar Sains*, 1, 31-36.
- 10 Safni, Amelia, F., Liansari, O., Suyani, H., Yusuf, Y., **2009**, Degradation of *Rhodamin-B* and *Alizarin-S* dyes by sonolysis and fotolysis methods with $\text{ZnO-H}_2\text{O}_2$ as catalyst, *J. Ris. Kim*, Vol. 1, No. 3, 76-82.
- 11 Safni, Wulandari, D. F., Zulfarman, Maizatisna, Sakai, T., **2008**, Degradasi *Indigo Carmine* Secara Sonolisis dan Fotolisis Dengan Penambahan TiO_2 -Anatase, *J. Sains MIPA*, Vol. 14, No. 3, 143-149.
- 12 Zilfa, Suryani, H., Safni, Jamarun, N., **2008**, Penggunaan Zeolit Sebagai Pendegradasi Senyawa Permetrin dengan Metode Fotolisis, *Jurnal Natur Indonesia*, Vol. 14, No. 1, 14-18.
- 13 Ameta, G., Vaishnav, P., Malkani, R. K., Ameta, S. C., **2009**, Sonolytic, Photocatalytic and Sonophotocatalytic Degradation of Toluidine Blue, *J. Ind. Council Che*, Vol. 26, No. 2, 100-105.
- 14 Zilfa, Yusuf, Y., Safni, Rahmi, W., **2013**, Pemanfaatan TiO_2 /Zeolit Alam Sebagai Pendegradasi Pestisida (Permetrin) secara Ozonolisis, *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 477-482.
- 15 Peller, J., Wiest, O., Kamat, P. V., **2001**, Sonolysis of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Aqueous Solution. Evidence for $\cdot\text{OH}$ - Radical-Mediated Degradation, *J. Phys. Chem. A.*, 105: 3176-3181.