



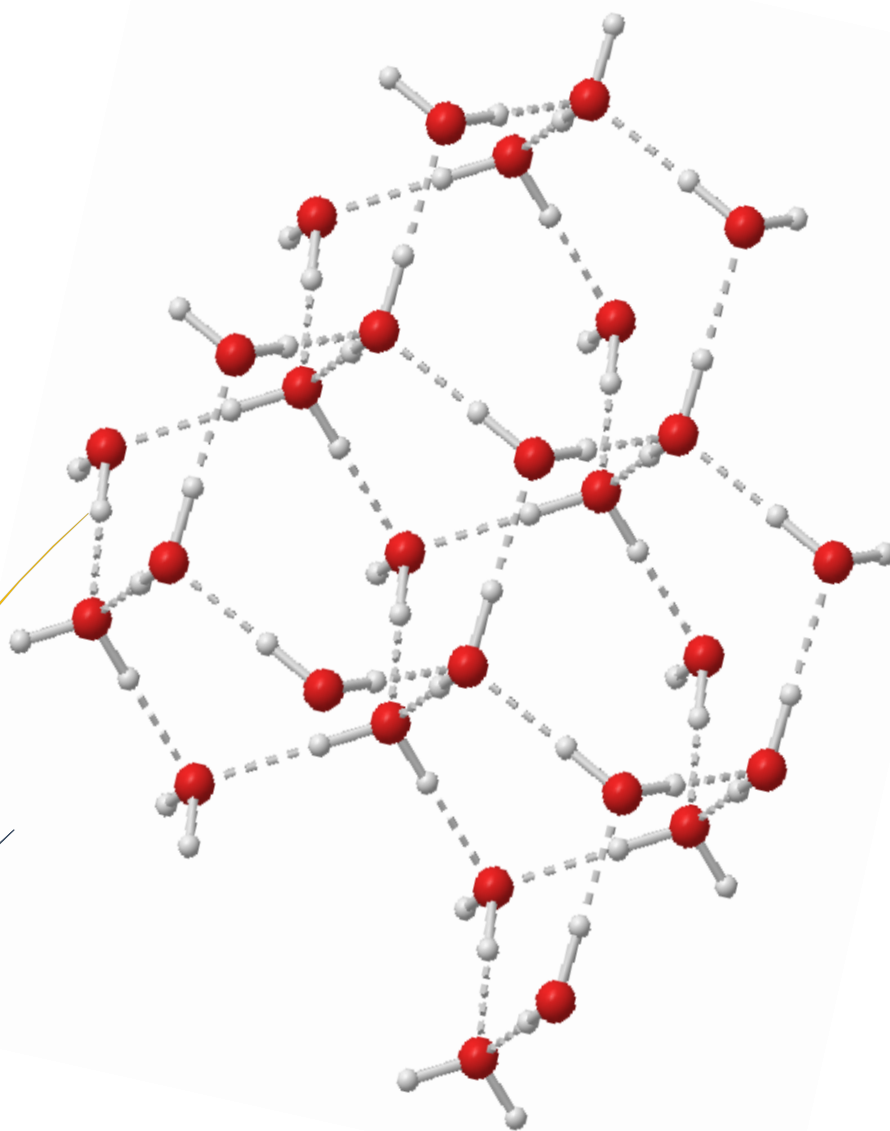
Vol. 1, No. 1, Februari 2017

ISSN: 2548-947x

2017

JURNAL ITEKIMA

Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Kimia



DITERBITKAN OLEH: SEKOLAH TINGGI ANALIS KIMIA CILEGON

Alamat Redaksi:

Jl. KH. Wasyid No. 6 Jombang Wetan, Kota Cilegon-Banten 42411
Telp: 0254-2579126; Fax: 0254-399970; E-mail: stak.clgn@gmail.com

Vol. 1, No. 1, Februari 2017
ISSN: 2548-947x

Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Kimia
(Jurnal ITEKIMA)

Pelindung:

(Ketua Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon)

Pengarah:

(Wakil Ketua III Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon)

Editor Ahli:

Prof. (R) Dr. Gustan Pari, M.Si-Puslitbang Hasil Hutan
Dr. Heny Hindriani, M.Si-Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon
Muhamad A. Martoprawiro, M.S, Ph.D-Institut Teknologi Bandung
Dr. Tati Herlina-Universitas Padjadjaran
Dr. Saronom Silaban-Universitas Negeri Medan
Dr. Tiurlina Siregar, M.Si-Universitas Cendrawasih Jayapura

Ketua Tim Editor:

Boima Situmeang, M.Si

Manajer Editor:

Micha Mahardika, S.Si, MT

Editor Pelaksana:

Andri Agus Anugrah, SE, M.Pd
Agus Malik Ibrahim, M.Si
Fauzan Amin, M.Si
Dina Alva Prastiwi, M.Si
Puspita Sari, S.Si
M. Irfan Junedi, S.Si
Yadi Supriyadi, ST

Desain Cover:

Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon

Alamat Redaksi:

Jl. KH. Wasyid No. 6 Jombang Wetan Kota Cilegon-Banten 42411
Telp. 0254-2579126; Fax. 0254-399970;
E-mail: stak.clgn@gmail.com/boimatumeang@gmail.com

Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Kimia (Jurnal ITEKIMA) yang dikelola Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon terbit secara berkala sebanyak dua kali dalam setahun, yaitu setiap bulan Februari dan Agustus. Jurnal ITEKIMA menerbitkan artikel ilmiah hasil-hasil penelitian dalam bidang **kimia terapan** dan **teknologi kimia** yang orisinal dan belum pernah dipublikasikan dalam media manapun, dengan ketentuan penulisan Jurnal ITEKIMA.

Naskah dikirim ke kantor editor dan selanjutnya akan ditelaah editor dan melalui proses mitra bestari. Naskah yang dapat dimuat dengan perbaikan akan dikirimkan kembali ke penulis untuk disempurnakan, sedangkan naskah yang tidak dapat dimuat akan dikembalikan ke penulis jika melampirkan amplop balasan. Informasi lengkap untuk pemuatan artikel dan petunjuk penulisan tersedia di setiap terbitan. Calon penulis artikel yang memerlukan petunjuk penulisan artikel dapat menghubungi redaksi pelaksana Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Kimia (ITEKIMA). Harga langganan jurnal (*hard copy*) adalah Rp. 100.000,-/nomor.

Mengutip ringkasan dan pernyataan atau mencetak ulang gambar atau tabel dari jurnal ini harus menyertakan nama penulis. Produksi ulang dalam bentuk kumpulan cetakan ulang untuk keperluan apapun harus seizin salah satu penulis dan mendapat lisensi dari penerbit. Jurnal ini diedarkan untuk perguruan tinggi, lembaga penelitian, dan perpustakaan di dalam maupun luar negeri.

DAFTAR ISI

	<i>Halaman</i>
ISOLASI SPONS <i>Xestospongia</i> sp. ASAL KAIMANA PAPUA BARAT DAN UJI ANTIMALARIA TERHADAP <i>P. falciparum</i>	1 - 7
PEMANFAATAN LIGNIN DARI LINDI HITAM SEBAGAI PEREKAT KAYU KOMPOSIT	8 - 16
ANALISIS LOGAM BERAT Pb DAN Cd DALAM AIR SUMUR DI SEKITAR LOKASI PEMBUANGAN SAMPAH AKHIR	17 - 24
SINTESIS DAN KARAKTERISASI TiO ₂ NANOSHEET DARI LIMBAH TETRA BUTOKSI TITANAT (TBT) UNTUK DEGRADASI SENYAWA 1,4-DIOKSAN	25 - 35
SENYAWA TRITERPENOID DARI TUMBUHAN MANGROVE (<i>Sonneratia alba</i>)	36 - 45
PENGARUH GETARAN DAN TEMPERATUR UDARA TERHADAP KINERJA <i>PROTON EXCHANGE MEMBRANE FUEL CELL</i> (PEMFC)	46 - 57
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK <i>n</i> -HEKSANA TANAMAN KERSEN (<i>Muntingia calabura</i>)	58 - 68
DESAIN, OPTIMASI, DAN KLONING GEN <i>PRETROMBIN-2</i> SINTETIK UNTUK PRODUKSI TROMBIN SEBAGAI KOMPONEN LEM FIBRIN	69 - 81
SINTESIS DAN KARAKTERISASI <i>EDIBLE FILM</i> DARI CAMPURAN TEPUNG GLUKOMANAN ILES-ILES KUNING (<i>Amorpophallus onchophyllus</i>)	82 - 94
FORTIFIKASI DAN KETERSEDIAAN ZAT BESI PADA BAHAN PANGAN BERBASIS KEDELAI MENGGUNAKAN BESI EDTA, GLISINAT, FUMARAT, DAN SUKSINAT	95 - 106

**ISOLASI SPONS *Xestospongia* sp. ASAL KAIMANA PAPUA
BARAT DAN UJI ANTIMALARIA TERHADAP *P. falciparum*
(Isolation of Spons *Xestospongia* sp From Kaimana West Papua and
Antimalarial Activity Test Against *P. falciparum*)**

Murthihapsari¹, Tati Herlina¹, & Eti Apriyanti¹

¹Departemen Kimia, Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran, Bandung
Email/telp: murthihapsari@gmail.com/ 08112220253

ABSTRAK

Plasmodium falciparum dikenal sebagai agen penyakit malaria yang mematikan. Saat ini, beberapa obat antimalaria telah dinyatakan resisten terhadap malaria. Fakta-fakta empiris tersebut menjadi landasan utama peneliti untuk mengeksplorasi potensi antimalaria yang terdapat di laut. Umumnya diketahui bahwa spons laut *Xestospongia* sp. Adalah salah satu target penelitian, spons lunak kini memiliki sebaran yang sangat luas di perairan tropis. Pada penelitian ini, dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif antimalaria pada spons Papua *Xestospongia* sp. secara *in vitro*, hasil penelitian menunjukkan adanya potensi signifikan antimalaria dengan nilai IC₅₀ yang sangat kecil yaitu sebesar $6,49 \times 10^{-7}$ µg/mL.

Kata kunci: *Xestospongia*, spons, antimalaria, *Plasmodium falciparum*

ABSTRACT

Plasmodium falciparum is the tropical world's agent of malignant malarial disease. Nowadays, most antimalarial drugs are reportedly resistance, these empirical facts have been motivating researchers to explore alternatively new hope of antimalarial from marine part. It's generally admitted that the marine sponge *Xestospongia* sp. is the most targetable example, a marine living resource which have widely distribution in the marine tropical waters. In the present study, we analysed the potential antimalarial components of Papuan marine sponge *Xestospongia* sp. We documented a significant potency and the presence of antimalaria (IC₅₀: $6,49 \times 10^{-7}$ µg/ mL).

Key words: *Xestospongia*, sponge, antimalarial, *Plasmodium falciparum*

1. PENDAHULUAN

Malaria dikenal sebagai penyakit sistemik mematikan yang menginfeksi sekitar 2,4 milyar manusia di 107 Negara. Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa kasus global mencapai 262 juta pada tahun 2010 dengan jumlah korban meninggal sekitar 839.000 jiwa. Seiring dengan meningkatnya aksi

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

global melawan prevalensi malaria hingga akhir 2015, jumlah kasus infeksi menurun 18%, dan kasus kematian menurun pula hingga 48%. Akhir tahun 2015, kasus kematian akibat malaria umumnya menyerang penduduk di benua Afrika (88%), Asia selatan dan tenggara (10%), dan daerah tropis lainnya (2%).

Penyakit malaria jenis *Plasmodium falciparum* dilaporkan telah resisten terhadap obat sintesis malaria seperti 4-amino kuinolin, klorokuin dan primakuin, kuinin dan pirimetamin, untuk itu perlu dilakukannya eksplorasi bahan alam yang dapat menghasilkan senyawa aktif yang memiliki sifat antimalaria melalui eksplorasi dari produk bahan alam.

Salah satu sumber daya hayati yang belum banyak diteliti adalah sumber hayati laut. Indonesia dikenal sebagai negara dengan 75% dari luasannya berupa lautan. Salah satu jenis biota laut yang berpotensi cukup besar dan berpeluang untuk pengembangan senyawa aktif seperti spons.

Kaitannya dengan jenis *Xestospongia* dari bagian utara Papua, Murtihapsari (2013), melaporkan bahwa jenis spons asal kepulauan Yapenini dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria *P. falciparum* dengan nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, sedangkan nilai IC₅₀ hasil fraksinasi kurang dari 25 µg/mL. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas senyawa antimalaria terhadap parasit *P. falciparum* secara *in vitro* dari *Xestospongia* sp. Asal kepulauan Kaimana, Papua Barat.

2. BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, pelat KLT, kromatografi kolom, *rotary evaporator*, membran *milipore* ukuran 0,22 dan 0,45 µm, tabung sentrifuse ukuran 10 dan 50 mL, lampu UV, ruang *Laminar Air Flow*, mikroskop pembesaran 10 x 100 (merk Nikon (Labophot-2) seri 441528 Jepang).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel spons *Xestospongia* sp. yang diperoleh dari kepulauan Kaimana, Papua Barat, etanol

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

75%, metanol, *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol reded, silika gel G60 (7-230 mesh), plat KLT silika gel GF₂₅₄, plat KLT pada ODS, pereaksi nampak noda asam sulfat 10%, asam pikrat, amonium hidroksida, dikolorometana, protozoa *P. falciparum* galur 3D7 (klorokuin sensitif) yang diperoleh dari University Tokyo, Jepang dan dikultur oleh Lembaga Eijkman-Jakarta, *Rosewell Parla Memorial Isntitute* (RPMI) 1640 yang mengandung L-glutamin, asam N-2-hidroksi etil piperazin-N-2-etana sulfonat (HEPES), NaHCO₃ 5%, antibiotik gentamisin sulfat injeksi, serum, sel darah merah (RBC) golongan darah O, zat antikoagulan sitrat fosfat dektrosa (CPD), pewarna Giemsa, larutan bufer fosfat pH 7,2.

Ekstraksi Spons

Sampel spons *Xestospongia* sp. dimaserasi sebanyak 500 g dalam 1 liter etanol 70%. Kemudian disaring tiap hari dihasilkan filtrat dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dipartisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol. Masing-masing fraksi dipekatkan dan diuji antimalaria secara *in vitro*.

Pemurnian Senyawa dengan Kromatografi Kolom

Isolasi dilakukan dengan metode kromatografi kolom. Kromatografi kolom digunakan sistem isokratik dan gradien menggunakan fase diam silika gel SiO₂, 70-230 mesh. Silika ini bersifat polar dan fase gerak heksana : etil asetat dengan perbandingan tertentu. Fraksi ditampung dalam vial yang telah diberi nomor kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis. Hasil fraksinasi kromatografi disimpan di dalam lemari pendingin. Fraksi yang memiliki R_f dan pola penampakan noda yang sama pada kromatografi lapis tipis digabung sebagai satu fraksi kemudian diuapkan dan di uji antimalaria.

Uji Antimalaria Secara *In Vitro*

Sebelum melakukan uji pertumbuhan *P. falciparum*, pembibitan kultur dilakukan dengan metode Trager dan Jensen melalui tahapan pembuatan media (RP), pembuatan NaHCO₃ 5%, pembuatan media transport untuk sinkronisasi,

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

pembuatan media pertumbuhan untuk uji, menyediakan serum darah, eritrosit tanpa parasit dan eritrosit terinfeksi *P. falciparum*, pembuatan slide preparatif, dan proses sinkronisasi.

Tahap Uji *in vitro*

Pengujian antimalaria dilakukan dengan menggunakan kultur parasit biakan. Kultur parasit diambil dengan cara disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm, supernatan dibuang dengan pipet Pasteur steril dan sisa endapan dihitung. Jika endapan terdapat 0,2 gradien maka ditambah dengan media pertumbuhan sampai 10 mL. Pada *conical tube* lain disiapkan RBC 50% (eritrosit tak berparasit) sebanyak 0,4 mL dan ditambahkan media pertumbuhan sampai 10 mL. Slide apusan darah tipis sebelumnya memberikan informasi kadar parasitemia galur 3D7 2%, maka dari *conical tube* yang telah berisi parasit diambil satu bagian volume dan satu bagian volume dari *conical tube* tak berparasit, selanjutnya dicampur sampai homogen dan siap dilakukan uji aktivitas antimalaria.

Perencanaan Konsentrasi

Lempeng sumur mikro disiapkan masing-masing diisi pada baris A-E, kolom 1 diisi kontrol negatif sedangkan baris A-E kolom 2-3 sebagai medium, selanjutnya kolom 4-12 masing-masing diisi dengan konsentrasi 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , dan 10^{-9} $\mu\text{g/mL}$.

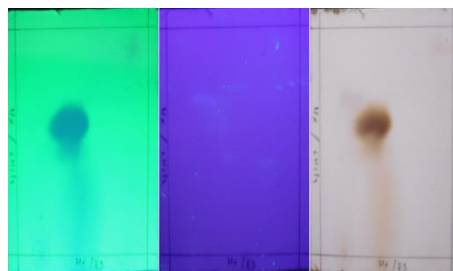
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Antimalaria Isolat Murni Dari Spons *Xestospongia* sp.

Senyawa aktif yang terdapat pada spons *Xestospongia* sp. sangat dipengaruhi oleh struktur habitat, kemampuan adaptasi, ketersediaan nutrisi serta interaksi intra sel spons itu sendiri. Spons *Xestospongia* sp. diperoleh dari kepulauan Kaimana, Papua Barat sebanyak 38000 gram dimaserasi, diperoleh ekstrak kental 300 gram. Kemudian dipartisi masing-masing dengan *n*-heksana (10 gram), etil asetat (11 gram), dan *n*-butanol (19 gram).

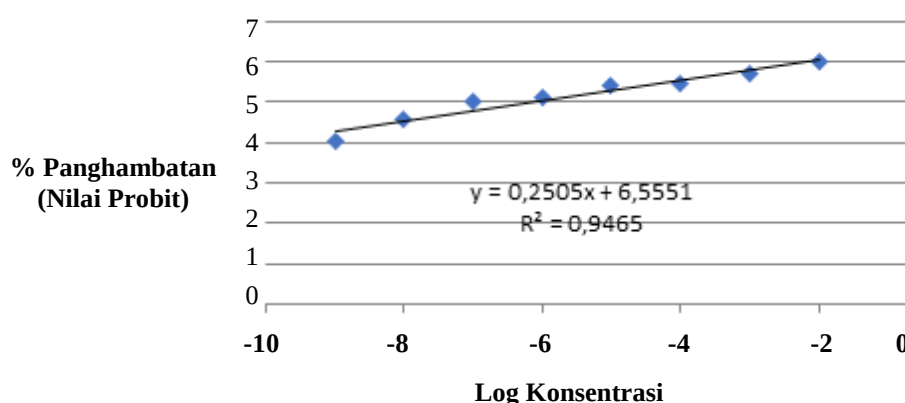
Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

Penelitian ini menggunakan fraksi etil asetat (11 gram) dan dilakukan kromatografi kolom sebanyak tiga kali. Kolom kromatografi pertama digunakan teknik gradien dengan pelarut n-heksana : etil asetat menghasilkan 14 (empat belas) fraksi. Selanjutnya dilakukan kolom kedua digunakan fraksi 4 (empat) teknik gradien dengan pelarut n-heksana : kloroform menghasilkan 20 (dua puluh) fraksi. Kolom kromatografi yang ketiga digunakan teknik isokratik menghasilkan 65 (enam puluh lima) fraksi. Isolat murni yang dihasilkan terdapat pada fraksi 43 (empat puluh tiga) dapat dilihat hasil kromatografi lapis tipis (Gambar 1).



Gambar 1. Kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan pelarut *n*-heksana/etil asetat (9:1) dan *n*-heksana/kloroform (9:1)

Isolat murni diuji antimalaria secara *in vitro* pada tahap ini dengan variasi konsentrasi 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji yang digunakan akan menghasilkan efek penghambatan *P. falciparum* semakin tinggi pula hingga 100% (Gambar 2).



Gambar 2. Persen penghambatan *P. falciparum* galur 3D7 dari isolat murni spons *Xestospongia sp.*

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

Spesimen yang diuji pada isolat murni dengan galur 3D7 memiliki nilai IC_{50} $6,49 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/mL}$. Kaitannya dengan jenis *Xestospongia* dari bagian utara Papua, melaporkan bahwa jenis spons asal kepulauan Yapenini dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria *P. falciparum* dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} hasil fraksinasi kurang dari 25 $\mu\text{g/mL}$.

Suatu bahan dikatakan berpotensi sebagai antimalaria jika $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak sedangkan untuk fraksi nilai $IC_{50} < 25$ $\mu\text{g/mL}$. Spons laut khususnya jenis *Xestospongia* memiliki potensi kandungan metabolit sekunder yang besar untuk pengembangan obat antimalaria. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Opsenica *et al.* (2004), senyawa tetraoksan menghasilkan nilai IC_{50} dengan galur W2 (resisten) dan D6 (sensitif) masing-masing 2×10^{-3} dan $2,53 \times 10^{-1}$ $\mu\text{g/mL}$.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa spons *Xestospongia* sp. Memiliki nilai IC_{50} yang sangat kecil yaitu $6,49 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/mL}$, nilai ini sangat kuat dan berpotensi sebagai antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagavan A, Rahuman AA, Kaushik NK, & Sahal D. 2011. *In vitro* Antimalarial Activity of Medicinal Plant Extracts Against *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res, Springer*. 108 : 15-22.
- Bernan VE, Greenstein M, & Maiese WM. 1997. Marine Microorganisme as a Source of New Natural Products. Academic press. New York.
- Conservation International. 2004. Freshwater Biotas of New Guinea and Nearby island: Analysis of Endemism, Richness, and Threats. Survey Report No. 004. Washington, D.C. pp 1-46.
- Ebada SS, Edrada RA, Wenhan L, & Proksch P. 2008. Protocols: Methods for Isolation, Purification and Structural Elucidation of Bioactive Secondary Metabolites from Marine Invertebrataes. *Nature*. Vol. 3 No.12.

- Faulkner DJ, & Ghiselin MT. 1983. Chemical Defense and Evolutionary Ecology of Doridnudibranchs and Some Other Opisthobranch Gastropods. *Marine ecology progress series*. Oldendorf pres. Germany.
- Happi CT, Gbotosho GO, Folarin OA, Akinboye DO, Yusuf BO, Ebong OO, & Oduola AMJ. 2005. Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* Genes and Age Related *In Vivo* Sulfadoxine–Pyrimethamine Resistance in Malaria-Infected Patients from Nigeria. *Actatropica*, 95(3), 183-193.
- Hay SI, Rogers DJ, Toomer JF, & Snow RW. 2010. Annual *Plasmodium falciparum* Entomological Inoculation Rates (EIR) Across Africa: Literatura Survey, Internet Access and Review. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 94, 2, 113–127.
- Murtihapsari, Parubak AS, Mangallo B, Ekasari W, Asih PB, & Lestari AY. 2013. Isolation and Presence of Antimalarial Activities of Marine Sponge *Xestospongia* sp. *Indo. J. Chem*, 13 (3), 199 – 204.
- Opsenica I, Terzie N, Opsenica D, Milhous KW, & Solaja B. 2004. 7,8,15,16 Tetraoxqidispiro [5.2.5.2] Hexadecane-3carboxylic Acid Derivates and Their Antimalarial Activity. Preliminary Vommunication. *J. Serb. Chem.Soc* 69 (11) 919-922.
- Wellems TE, & Plowe CV. 2001. Chloroquine-Resistant Malaria. *Journal of Infectious Diseases*, 184(6), 770-776.
- WHO (World Health Organization). 2008. *In Vitro* Micro-test (Mark III) for The Assessment of The Response of *Plasmodium falciparum* to Chloroquin, Mefloquine, Quinine, Amodiaquine, Sulfadoxine/Pyrimethamine and Artemisinin. Division of Control of Tropical Diseases.
- WHO (World Health Organization). 2011. World Malaria report 2011.
- WHO (World Health Organization). 2015. World Malaria report 2015.
- Wongsrichanalai C, Pickard AL, Wernsdorfer WH, & Meshnick SR. 2002. Epidemiology of drug-resistant malaria. *The Lancet infectious diseases*, 2(4), 209-218.

PEMANFAATAN LIGNIN DARI LINDI HITAM SEBAGAI PEREKAT KAYU KOMPOSIT

(Utilization of Lignin From Black Liquor as Composite Wood Adhesive)

M I Iskandar¹, Adi Santoso², & Nina Wiyantina³

¹Puslitbang Hasil Hutan-Bogor

²Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon

³SMK SMAKBO-Bogor

E-mail/telp: mi.iskandar53@gmail.com/081314038039

ABSTRAK

Lignin dalam lindi hitam memiliki afinitas yang kuat bila direaksikan dengan formaldehida membentuk perekat lignin formaldehida. Guna meningkatkan daya rekatnya, lignin dikopolimerisasi dengan fenol atau resorsinol sehingga terbentuk resin lignin fenol formaldehida atau lignin resorsinol formaldehida. Resin tersebut dapat diaplikasikan dalam pembuatan produk kayu komposit seperti kayu lapis, papan sambung dan kayu lamina. Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap jenis perekat berbasis lignin memiliki karakter yang spesifik. Hasil pengujian terhadap kayu lapis yang direkat dengan lignin formaldehida (LF) dan lignin fenol formaldehida (LPF) menunjukkan bahwa keteguhan rekat produk tersebut berkisar antara 8,0-27,0 kg/cm², sementara untuk kayu lamina yang direkat dengan lignin resorsinol formaldehida (LRF) berkisar antara 36,9-88,0 kg/cm², dengan *modulus of rupture* dan *modulus of elasticity* berturut-turut sekitar 372 - 637kg/cm² dan 47,164 - 60,237 kg/cm². Emisi formaldehida produk berkisar antara 0,05-0,14 mg/L. Efisiensi perekat berbasis lignin pada aplikasi papan sambung mencapai 35,4 - 73,6%. Produk yang menggunakan perekat berbasis lignin ini memenuhi persyaratan Indonesia, Amerika, dan Jepang.

Kata kunci: Lignin, perekat, kayu lapis, papan sambung, kayu lamina

ABSTRACT

The lignin in the sulphate black liquor has a strong affinity when being reacted with formaldehyde to form lignin formaldehyde adhesives. To increase the bonding strength, the lignin is co-polymerized with phenol or resorcinol to form lignin phenol formaldehyde or lignin resorcinol formaldehyde resins. The resins can be applied in of reconstituted wood products manufacturing such as plywood, finger-jointed wood assembly and glue laminated lumber. The research result showed that each type of lignin base adhesives have specific characters which met Indonesian standard. The test result on plywood which glued by lignin formaldehyde (LF) and lignin phenol formaldehyde (LPF) indicated that bonding strength of the products were 8.0-27.0 kg/cm², for a while on laminated wood which glued by lignin resorcinol formaldehyde (LRF) indicated that bonding strength of the products were 36.9-88.0 kg/cm², modulus of rupture and modulus of elasticity 372-637kg/cm² and 47.164-60.237 kg/cm², respectively. The

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

formaldehyde emissions were about 0.05-0.14 mg/L. The efficiency of lignin based adhesives on finger joint application reach 35.4-73.6%. Therefore, the synthesis of lignin based adhesives, a unique wood adhesive with good resin characteristics and met bonding strength and formaldehyde emission requirement as stated in Indonesia, American, and Japanese standards.

Key words: *Lignin, plywood, adhesive, jointed board, laminated wood*

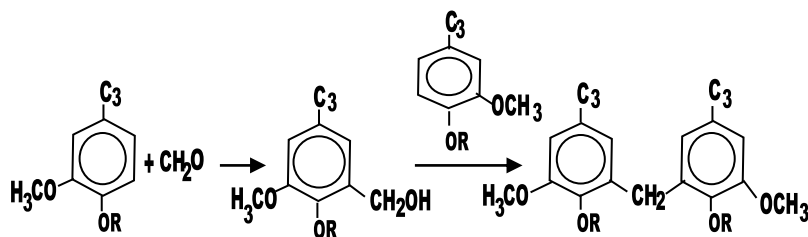
1. PENDAHULUAN

Sampai dengan tahun 2005 di Indonesia diprediksi terdapat 32 pabrik pulp dengan kapasitas produksi pulp mencapai 7,6 juta ton (Ahmad, 2001). Santoso (2003) mengemukakan bahwa dari produksi 250 ton pulp per hari, diperoleh lindi hitam sebanyak 120 ton per hari atau 43.800 ton per tahun (48%). Banyaknya lignin yang bisa diperoleh dari lindi hitam adalah sekitar 18% - 47% (b/b), dan bila dihitung lebih lanjut, maka dari 7,6 juta ton pulp itu bisa diperoleh lindi hitam kira-kira 3,6 juta ton, dengan perolehan lignin sekitar 0,65-1,7 juta ton (Santoso, 2011).

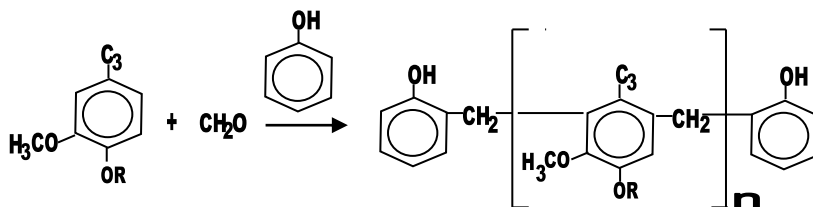
Isolat lignin dari lindi hitam, memiliki tiga gugus fungsi, yaitu gugus karbonil, hidroksifenolik, dan hidroksil-benzilik. Menurut Sjöström (1995), di antara ketiga gugus fungsi tersebut gugus hidroksifenolik berperan penting dalam reaksi yang menggunakan katalis alkali terutama dalam pemanfaatan lignin sebagai bahan baku perekat untuk kayu lapis melalui reaksi hidroksimetilasi (Pizzi 1994, Gillespie 1985, dan Ping *et al.*, 2012) maupun kopolimerisasi dengan fenol (Santoso, 2005). Hermiati *et.al*, (2016) lebih jauh mengemukakan, lignin selain bisa dimanfaatkan untuk perekat juga untuk *coating* dan *chemical*.

Dalam hal aplikasinya sebagai perekat, resin lignin resorsinol-formaldehida dapat berikatan secara spesifik dengan kayu karena resin tersebut bersifat polar, yang dicirikan antara lain oleh adanya gugus hidroksil (OH) dan karbonil (CO) (Wake dalam Garrat, 1964). Salah satu komponen kayu lainnya adalah selulosa, yang mengandung gugus hidroksil dan karbonil sehingga bersifat polar. Berdasarkan keserupaan sifat tersebut, Pizzi (1983) mengemukakan bahwa perekat bereaksi dengan selulosa membentuk ikatan yang kuat. Perkiraan reaksi

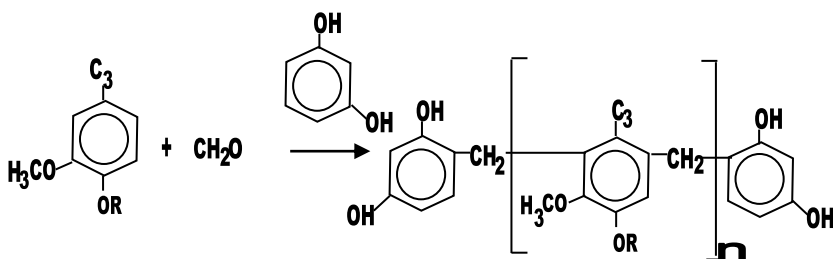
pembentukan dari setiap jenis perekat tersebut disajikan pada Gambar 1, 2 dan 3 (Santoso, 2011). Tulisan ini mengemukakan aplikasi lignin yang diperoleh dari lindi hitam sisa pemasakan di pabrik pulp untuk perekat kayu, yang diharapkan dapat dijadikan alternatif dan mengurangi kebergantungan akan perekat impor untuk industri pengolahan kayu yang ramah lingkungan.



Gambar 1. Reaksi pembentukan LF



Gambar 2. Reaksi pembentukan LPF



Gambar 3. Reaksi pembentukan LRF

2. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah lindi hitam kraft cair yang berasal dari pabrik kertas PT Bekasi Teguh-Bekasi dengan bahan baku campuran serpih kayu sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) dan manii (*Maesopsis*

eminii Engl.) dengan nisbah bobot 60 : 40, berbentuk cairan kental, berwarna coklat kehitaman, dan berbau khas senyawa sulfur. Bahan kimia antara lain terdiri atas H_2SO_4 2 N, NaOH 0,1 N, fenol, resorsinol, dan formaldehida.

B. Pembuatan Perekat Lignin

Lignin dari lindi hitam diisolasi dengan cara pengendapan berulang (represipitasi), yaitu mengendapkan lindi hitam dengan larutan H_2SO_4 2 N, kemudian disaring. Endapan lignin yang terbentuk kemudian dilarutkan dengan NaOH 0,1 N dan disaring. Filtrat diendapkan kembali dengan larutan H_2SO_4 2N dan disaring lagi. Hasil yang didapat kemudian dikeringkan pada suhu 50-60°C (Kim *et al.*, 1987).

Lignin direaksikan dengan senyawa fenolik seperti fenol, resorsinol, dan formaldehida pada perbandingan mol tertentu. Dibuat perekat lignin formaldehida (LF) untuk perekat kayu lapis dengan nisbah mol L:F = 1:2 dan lignin fenol formaldehida (LPF) dengan nisbah mol L:P:F = 1:0,5:2, sementara untuk papan sambung dibuat dengan perekat lignin pada nisbah mol L:R:F = 1:0,5:2. Sifat fisikokimia perekat berbasis lignin tersebut selanjutnya diuji pH, kadar padatan, bobot jenis dan kekentalan (SNI 1998 dan Akzonobel, 2003).

C. Pembuatan Produk Kayu Komposit

Produk yang dibuat dalam skala laboratorium berupa kayu lapis, kayu lamina dan papan sambung. Kayu lapis dibuat dari jenis kayu tusam (*Pinus merkusii*) dengan ukuran 30 cm x 30 cm x 4.5 mm, masing-masing menggunakan perekat lignin formaldehida (LF) dan lignin fenol formaldehida (LPF), serta dikempa pada suhu 135 °C selama 15 menit.

Produk komposit lainnya yaitu kayu lamina, dibuat dari tiga jenis kayu yaitu manii (*Maesopsis eminii*), jati (*Tectona grandis*), dan kempas (*Koompassia malaccensis*) dengan ukuran masing-masing 50 x 2 x 5 cm. Setiap jenis kayu lamina tersebut menggunakan perekat lignin resorsinol formaldehida (LRF) dan dikempa pada suhu kamar.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Perekat LRF ini juga diaplikasikan pada pembuatan produk komposit berupa papan sambung dengan kempa dingin pada lima jenis kayu, yaitu Waru (*Hibiscus titiaccus*), Bunyo (*Trioma malaccensis*), Gambir (*Trigono pleura malayana*), Tempeas (*Teymanniodendron sympliodes*), dan Rasamala (*Altingia excelsa*). Kualitas rekat dan efisiensi penyambungan dari setiap produk di atas diuji dengan mengacu kepada SNI (2000) untuk papan sambung dan kayu lapis, serta JAS (2003) dan ASTM (2005) (untuk kayu lamina).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik perekat berbasis lignin tercantum pada Tabel 1. Secara umum, semua jenis perekat lignin yang dibuat memenuhi persyaratan SNI untuk perekat berbasis fenolik (SNI 1998).

Kualitas Produk Kayu Komposit

Uji kualitas produk kayu lapis terdiri atas keteguhan rekat dan emisi formaldehida yang hasilnya disajikan pada Tabel 1. Kayu lamina dilengkapi dengan uji keteguhan lentur dan keteguhan patah yang hasilnya masing-masing disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 1.

Tabel 1. Ikhtisar karakteristik perekat berbasis lignin*)

No.	Sifat	Jenis perekat lignin				Standar PF (SNI, 1998)	PRF (Aczonobel, 2003)
		LF	LPF	LRF (1)	LRF (2)		
1.	Visual	L, RB	L, RB	L, RB	L, RB	L, RB	L, RB
2	Specific gravity	1,12	1,06	1,14	1,16	>1,0	1,15
3.	Solid content, (%)	42	54	50,28	52,78	40,0 – 45,00	57,03
4.	Viscosity (Poise)	1,4	2,4	1,8	1,2	1,3 – 3,0	3,4
5.	Acidity (pH)	8,1	8,5	10,75	9,85	10,0 – 13,01	8,0

Keterangan:

*) = rata-rata dari 4x ulangan; LF = lignin formaldehida, LPF = lignin fenol formaldehida

LRF (1) = lignin resorsinol formaldehida untuk kau lapis, L, RB = Cair, merah kecokelatan

LRF (2) = lignin resorsinol formaldehida untuk kayu lamina

Tabel 2. Kualitas rekat produk kayu komposit yang menggunakan perekat berbasis lignin*)

Jenis perekat lignin	Produk	Keteguhan rekat (kg/cm ²)		Emisi formaldehida (mg/L)
		Uji kering	Uji basah	
Lignin formaldehida	Kayu lapis*	-	8.88 – 26.96	-
Lignin phenol formaldehida	Kayu lapis **	-	10.07 – 19.25	-
Lignin resorsinol formaldehida	Kayu lapis ***	-	8.02 – 9.05	0.02 – 0.05
Lignin resorsinol formaldehida (1)	Kayu lamina ^a	76.64 – 79.02	36.86 – 44.64	0.002 – 0.140
Lignin resorsinol formaldehida (2)	Kayu lamina ^b	66.56 – 72.00	42.40 – 45.73	-
Lignin resorsinol formaldehida (3)	Kayu lamina ^c	69.12–88.00	43.17 – 45.49	0.10 – 0.014

Keterangan: *) = rata-rata dari 4x ulangan; * kempa panas (135⁰C), 3 menit, jenis kayu tusam dengan ekstender;

- = tak ada data; ** kempa panas (135⁰C), 3 menit, jenis kayu tusam tanpa ekstender

*** = kempa dingin (suhu kamar), 24 jam, jenis kayu tusam tanpa ekstender

^a = kempa dingin, 3 jam, , jenis kayu manii; ^b kempa dingin, 4 jam jenis kayu jati

^c = kempa dingin, 8 jam, jenis kayu kempas

Tabel 3. Ikhtisar nilai MOE dan MOR kayu lamina manii berperekat LRF*)

Masa kempa (jam)	MOE (kg/cm ²)		MOR (kg/cm ²)	
	Kayu lamina	Kayu utuh	Kayu lamina	Kayu utuh
3	47.164,38		371,66	
6	68.540,24	56.387,72	476,95	462,57
12	60.236,71		637,45	

Keterangan: *) = rata-rata dari 4x ulangan;

Nilai keteguhan rekat kayu lapis yang menggunakan perekat LF, LPF dan LRF semuanya memenuhi persyaratan (SNI 01-5008.2-2000) untuk tipe eksterior, karena nilainya > 7 kg/cm². Hasil penelitian ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan produk sejenis yang menggunakan perekat PF komersial (Santoso dan Rachman, 2004).

Aplikasi perekat LRF (1-3) pada tiga jenis kayu lamina, masing-masing jenis kayu manii, jati, dan kempas menghasilkan keteguhan rekat yang memenuhi persyaratan standar Jepang (JAS, 2003) karena masing-masing nilainya > 54 kg/cm² (uji kering) dan > 41 kg/cm² (uji basah) sehingga dapat diaplikasikan untuk lantai *parquet*. Produk penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan produk serupa yang menggunakan perekat komersial seperti fenol-resorsinol, serta fenol-resorsinol-formaldehida, dengan merk dagang Aerodux 500, Cony Bond KR 15Y, PA 302, dan *Water Based Polymer Isocyanate* (WBPI) hasil penelitian dari Tahir *et al.* (1998), Karnasudirdja (1989), dan Supartini (2012), namun relatif

sebanding dengan produk lamina yang menggunakan perekat nabati berbasis resorsino dari ekstrak kayu merbau (Santoso *et al.* 2016). Kayu lamina yang dibuat dengan berbagai masa kempa ini memiliki *modulus of elasticity* (MOE) dan *modulus of rupture* (MOR) yang lebih tinggi dibanding kayu utuhnya, kecuali masa kempa selama 3 jam. Nilai MOR dan MOE inipun lebih besar bila dibandingkan hasil penelitian Sadiyo (1989) dan Sutton *et al.*, (2011). Hasil tersebut menunjukkan bahwa formula LRF cocok untuk penggunaan kayu lamina.

Papan Sambung

Perekat lignin resorsinol formaldehida (LRF) diaplikasikan pula pada papan sambung. Hasil penelitian terhadap 5 jenis kayu untuk papan sambung yang direkat dengan LRF mencapai efisiensi sambungan antara 35,4% - 73,6% (Tabel 4). Produk perekatan yang menggunakan perekat LRF ini tergolong tipe eksterior yang ramah lingkungan karena emisi formaldehidanya di bawah ketentuan maksimum yang diperkenankan standar Amerika sebesar 0,3 mg/L (NPA, 1983) dan Jepang sebesar 0,3–4,2 mg/L (JAS, 2003).

Berdasarkan hasil perhitungan, jika dibandingkan dengan perekat komersial seperti fenol formaldehida (PF), perekat berbasis lignin ini lebih murah. Untuk memproduksi perekat PF diperlukan bahan baku seperti fenol sebanyak 45% dan formaldehida 27% dari total komponennya, sementara untuk membuat perekat PRF diperlukan fenol sebanyak 27%, resorsinol 19% dan formaldehida 35%, namun untuk memproduksi perekat berbasis lignin seperti lignin resorsinol formaldehida (LRF) hanya diperlukan lignin sebanyak 20%, resorsinol 8% dan formaldehida 13%.

Tabel 4. Ikhtisar efisiensi sambungan pada lima jenis papan sambung

No.	Jenis kayu	Bobot jenis	MOR (kg/cm ²)	MOE (kg/cm ²)	Efisiensi Sambungan (%)
1.	Waru	0,40	501	65.869	60,3
2.	Bunyo	0,47	470	151.692	66,6
3.	Gambir	0,58	400	74.261	40,5
4.	Tempeas	0,76	399	146.417	73,6
5.	Rasamala	0,77	404	91.502	35,4

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kayu lapis yang direkat dengan lignin formaldehida dan lignin fenol formaldehida berkisar antara 8,02 - 26,96 kg/cm², sementara kayu lamina yang direkat dengan lignin resorsinol formaldehida berkisar antara 36,86 - 88,00 kg/cm². *Modulus of rupture* dan *modulus of elasticity* 371,66 - 637,45 kg/cm² dan 47.164,38 - 60.236,71 kg/cm². Emisi formaldehidanya berkisar antara 0,05 - 0,14 mg/L. Efisiensi sambungan dari perekat berbasis lignin untuk aplikasi papan sambung mencapai 35,4 - 73,6%. Perekat sintetis berbasis lignin merupakan perekat prospektif, Produk perekatan yang menggunakan perekat berbasis lignin ini selain berkualitas eksterior, juga ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad NR. 2001. Restrukturisasi Industri Kayu Hulu dan Pengelolaan Hutan Produksi di Luar Jawa. Makalah Sukarela. Kongres Kehutanan Indonesia ke-III. Jakarta, 25-28 Oktober 2001.
- Akzonobel. 2001. Synteko Phenol-Resorcinol Adhesive 1711 with Hardeners 2620, 2622, 2623. Jakarta: Casco Adhesive.
- Hermiati E, Risanto L, Lubis MR, Laksana RPB, & Dewi AR. 2016. Chemical Characterization of Lignin From Kraft Pulping Black Liquor of *Acacia Mangium*. *International Sympo-sium on Applied Chemistry (ISAC) 2016*. Published by AIP Publishing. 978-0-7354-1471-6.
- Agricultural Standard (JAS). 2003. Japanese Agricultural Standard for Glued Laminated Timber. Notification No. 234 February 27,2003. Tokyo: JPIC.
- Karnasudirdja S. 1989. Prospek Kayu Indonesia sebagai Bahan Baku Industri Kayu Lamina. Makalah pada Seminar Glue Laminated Timber (Glulam), 15 Juni 1989, Departemen Kehutanan RI. Jakarta.
- Kim H, Hill MK, & Friche AL. 1987. Preparation of Kraft Lignin from Black Liquor. *Tappi Journal*, December 1987 : 112.
- National Particleboard Association (NPA). 1983. Small Scale Test Method for Determining Formaldehyde from Wood Product. Maryland.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

- Ping L, Gambier F, Pizzi A, Guo ZD, & Brosse N. 2012. Wood Adhesives from Agricultural By-Products: Lignins and Tannins for the Elaboration of Particleboards. *Cellulose Chem. Technol.*, 46 (7-8), 457-462.
- Pizzi A. 1994. Advanced Wood Adhesives Technology. New York: Marcel Dekker.
- Sadiyo S. 1989. Pengaruh Kombinasi Jenis Kayu dan Jenis Perekat Terhadap Sifat Fisis dan Mekanis Panel Diagonal Lambung Kapal. Fakultas Pascasarjana, IPB – Bogor. Thesis. (tidak diterbitkan).
- Santoso A. 2003. Sintesis dan Karakterisasi Resin Lignin Resorsinol Formaldehida untuk Perekat Kayu Lamina. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Disertasi (tidak diterbitkan).
- Santoso A, & Rachman O. 2004. The Utilization of Condensed Tannins from Mangium Barks for Wood Adhesives. *Wana Mukti Forestry J.* 2(2):49–56.
- Santoso, A. 2005. Pemanfaatan Lignin & Tanin Sebagai Alternatif Substitusi Bahan Perekat Kayu Komposit. Proseding Simposium Nasional Polimer V, 22 Nopember, Bandung: 155 – 164.
- Santoso A. 2011. Tanin dan Lignin dari Acasia Mangium Wild Sebagai Bahan Perekat Kayu Majemuk Masa Depan. Orasi Pengukuhan Profesor Riset Bidang Pengolahan Hasil Hutan. Pusat Penelitian Hasil Hutan. Bogor.
- Santoso A, Hadi YS, Pizzi A, & Lagel MC. 2016. Characterization of Merbau Wood Extract Used as an Adhesive in Glued Laminated Lumber. *Forest Products Journal.* 66(5): 313-318.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 1998. Kumpulan SNI Perekat. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2000. Kayu Lapis untuk Penggunaan Umum. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional, SNI 01-5008.2-2000.
- Tahir PM, Sahri MH, & Ashari Z. 1998. Gluability of Less Used and Fast Growing Tropical Plantation Hardwood Species. Selangor: Faculty of Forestry University Pertanian Malaysia.

**ANALISIS LOGAM BERAT Pb DAN Cd DALAM AIR SUMUR
DI SEKITAR LOKASI PEMBUANGAN SAMPAH AKHIR**
(*Anaysis of Heavy Metal Pb and Cd on Well Water Around The Waste
Disposal*)

Hafni Indriati Nasution¹, & Saronom Silaban¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Medan, Medan, Indonesia
E-mail/telp: fickysuryahadi@rocketmail.com/085317692813

ABSTRAK

Penelitian analisis kandungan logam berat Pb dan Cd pada air sumur galian di sekitar tempat pembuangan akhir sampah (TPA sampah). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar logam berat Pb dan Cd pada sumur galian penduduk di sekitar TPA sampah. Pengaruh jarak antara sumur galian penduduk dengan TPA sampah terhadap kandungan logam berat Cd dan Pb pada air sumur galian. Sampel air sumur galian penduduk di sekitar TPA sampah diuji kandungan logam berat Pb dan Cd dengan menggunakan *atomic absorption spectrophotometer*. Berdasarkan penelitian laboratorium diperoleh kandungan logam berat Pb = 0,31 mg/L, Cd = 0,2 mg/L melampaui ambang batas kualitas air minum yang telah ditetapkan dalam peraturan Menteri Kesehatan RI no: 907/MENKES/VII/2002. Hasil analisis menunjukkan bahwa semakin jauh jarak sumur dengan TPA sampah, maka semakin berkurang kadar Pb dan Cd pada air sumur galian.

Kata kunci: Pb, Cd, sampah, air sumur

ABSTRACT

The research analyzed heavy metal Pb and Cd content in well water dug around the waste disposal. The research was aimed to determine the content of heavy metal Pb dan Cd in resident's well dug around the waste disposal, and the influence of the distance between the well with the waste disposal to Pb and Cd contents in well water. The content of Pb and Cd in well water samples was analyzed using atomic absorption spectrophotometer. The results showed that the well water analyzed contained Pb 0.31 mg/L and Cd 0.2 mg/L. This exceeded the threshold quality of drink water established in Minister of Health Republic of Indonesia regulation number 907/MENKES/VII/2002. The results showed that the further well dug from the waste disposal, Pb and Cd contents were getting lower.

Key words: Pb, Cd, waste, well water

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

1. PENDAHULUAN

Air merupakan sumber daya alam yang sangat dibutuhkan bagi kehidupan manusia, baik untuk keperluan industri dan kehidupan. Hal ini sesuai dengan tujuan dari Deklarasi Penyelamatan Air, yang tujuannya adalah mencapai kelangsungan hidup yang seimbang di seluruh dunia (Hanifah, 2001). Diperkirakan kebutuhan air dari tahun ke tahun semakin meningkat, hal ini tidak hanya disebabkan oleh peningkatan jumlah penduduk tetapi juga disebabkan oleh peningkatan kebutuhan per kapita yang meningkat sesuai dengan perubahan gaya hidup. Saat ini persediaan air dari berbagai sumber sangat terbatas dengan distribusi yang tidak merata, sehingga perlu dicari upaya-upaya untuk mengatasi kelangkaan air agar dapat menjamin ketersediaannya bagi generasi yang akan datang. Kelangkaan air akan merangsang pemanfaatan air dari berbagai sumber air.

Sumur telah lama digunakan sebagai sumber air untuk berbagai kebutuhan rumah tangga, industri kecil, menengah dan besar. Penggunaan sumur merupakan suatu alternatif bagi daerah yang tidak mendapat pelayanan atau tidak terjangkau pelayanan Perusahaan Daerah Air Minum (PDAM). Keterbatasan teknologi, dana dan modal membatasi kemungkinan distribusi yang merata akan air bersih dan sehat bagi penduduk. Oleh karena itu penduduk tidak dapat seluruhnya menggantungkan diri pada sistem pengolahan air sehat dan bersih seperti PDAM untuk memenuhi kebutuhannya. Tempat Pembuangan Akhir (TPA) sampah Muara Fajar mulai beroperasi sejak tahun 1985 dengan luas areal efektif 8 Ha, dapat menampung sampah 1.722 m³/ hari (Dinas Kebersihan, 2004). TPA tersebut mengelola 90% sampah dengan sistem buang terbuka (*open dumping*), dan 10% dengan timbun terkendali (*controlled landfill*).

Sistem tersebut mempercepat proses perombakan sampah oleh mikroba tanah yang menghasilkan lindi (*leachate*). Lindi yang terkena siraman air hujan, mudah mengalir dan meresap ke lapisan tanah bawah. Tanah *porous* akan

memudahkan peresapan lindi secara vertikal dan horizontal sehingga kondisi ini lebih mudah mencemari air tanah, khususnya air sumur penduduk di sekitarnya (Slamet, 1994). Lindi merupakan sumber utama pencemaran air, baik air permukaan maupun air tanah yang berpengaruh terhadap sifat fisik, kimia dan mikrobiologi air. Hal tersebut akan mengakibatkan turunnya kualitas air, sehingga tidak sesuai dengan peruntukannya (Rand *et al.*, 1975).

Perombakan sampah secara aerobik menghasilkan lindi yaitu cairan yang mengandung ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{2-} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} dan gas H_2S . Unsur dan senyawa kimia ini mudah bereaksi di dalam air dan sebagai sumber utama pencemaran air sumur (Stigliani, 1997).

Tumpukan sampah di TPA merupakan tempat berkembang biaknya mikroba patogen dan non patogen. Adanya bakteri pada air minum merupakan indikator pencemaran air (Fardiaz, 1992; Pagoray, 2002). Hefni (2003) menjelaskan bahwa bakteri dalam tanah bergerak secara vertikal dan horizontal. Bakteri dapat meresap 30 meter pada tanah bertekstur halus dan bergerak horizontal sejauh 80 meter dari sumber kontaminan. Air hujan serta air permukaan yang berada di sekitar penampungan lindi dan penimbunan sampah akan mengalami proses infiltrasi ke dalam *akuifer* tanah atau sebagian akan mengalir sebagai air permukaan. Air yang terinfiltrasi maupun yang mengalir sebagai air permukaan sangat potensial sebagai pembawa bahan pencemar yang nantinya menuju *akuifer* sebagai air yang tercemar. Air tanah yang telah tercemar dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia (Azwar, 1996).

2. BAHAN DAN METODE

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *atomic absorbtion spectrophotometer* (AAS) UNICAM SOLAAR, botol plastik putih 300 mL, pipet tetes 5 mL, tabung reaksi, dan pH meter (HANNA INSTRUMENTS). Sedangkan

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

bahan dalam penelitian ini adalah air sumur galian, aquades, HNO_3 , larutan baku standar, larutan Cd 1000 ppm, dan larutan Pb 1000 ppm.

B. Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air dilakukan pada semua sumur yang ada di sekitar TPA Muara Fajar yaitu sebanyak 10 sumur. Sampel air diambil dengan variasi kedalaman sumur yaitu bagian dasar, tengah dan atas. Sampel air ditampung pada satu ember plastik kemudian diaduk agar homogen, sehingga sampel air yang dianalisis diharapkan mewakili badan air. Volume sampel air untuk analisis logam berat dan pH diambil 300 ml dengan wadah botol plastik putih. Sebelum dibawa ke laboratorium, sampel air diawetkan dengan ditambahkan tiga tetes HNO_3 pekat, sedangkan penentuan pH dilakukan secara langsung di lapangan. Sampel air diambil pada tiga periode yaitu bulan Oktober (keadaan udara panas), bulan November (keadaan baru terjadi musim hujan), bulan Desember (keadaan udara panas). Sampel diambil pada dua lokasi yaitu bagian barat dan bagian timur dari TPA. Masing-masing diambil dengan jarak sesuai dengan sistem pengambilan sesaat dan kedalaman 5-15 meter.

C. Standarisasi Alat AAS

Sebelum pengukuran kadar logam dalam sampel dilakukan, maka terlebih dahulu alat AAS distandarisasi dan dikondisikan seperti tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi pengoperasian alat AAS

No	Parameter	Logam	
		Pb	Cd
1	Arus lampu	10 mA	80 mA
2	Pengulangan	3 kali	3 kali
3	Penjang gelombang	217,0 nm	228,8 nm
4	Celah/ silit	0,7 nm	0,7 nm
5	Tipe kalibrasi	Linier	Linier
6	Tipe nyala	Udara-asetilen	Udara-asetilen
7	Metode	Absorpsi	Absorpsi
8	Larutan baku standar	Pb 1000 ppm	Cd 1000 ppm

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

D. Analisis Kadar Logam Cd dan Pb dalam Sampel

Penentuan kadar logam Cd dan Pb dalam sampel dilakukan dengan menyediakan 100 mL contoh uji sesuai dengan metode pengambilan contoh uji kualitas air SK SNI M 02-1989-F, selanjutnya dilakukan penyaringan secara duplo dengan saringan membran berpori 0,45 nm. Kemudian sampel yang telah disaring dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 20 mL dan sampel siap diuji. Uji kadar logam Cd dan Pb dilakukan dengan menguji satu persatu sampel uji ke dalam alat AAS melalui pipa kapiler, selanjutnya dilakukan pembacaan dan pencatatan serapan (logam Cd dan Pb).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel air sumur galian di sekitar TPA yang dianalisis diambil dalam tiga tahap, yaitu tahap pertama pada bulan Oktober, kedua pada bulan November dan yang ketiga pada bulan Desember. Rata-rata nilai pH dari ketiga sampel menunjukkan bahwa, nilai pH sampel air sumur galian di sekitar TPA sebesar 6,25. Hasil ini menunjukkan bahwa tingkat keasaman sampel air tidak sesuai standar Kemenkes yaitu pH 6,5-9,0 (Tabel 2). Sementara hasil pengukuran kandungan logam Pb dan Cd terhadap sampel juga cukup tinggi, yaitu kandungan logam timbal (Pb) dari ketiga sampel sebesar 0,31 mg/L sedangkan kandungan logam kadmium (Cd) sebesar 0,21 mg/L, jauh lebih tinggi dibanding ambang batas yang diizinkan untuk logam Pb sebesar 0,05 mg/L dan Cd sebesar 0,005 mg/L (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata Kandungan Logam dan pH Air Sumur di sekitar TPA Muara Fajar

Parameter	Bulan Pengukuran			Rata-rata	Ambang Batas yang Dizinkan ^(*)
	Oktober	November	Desember		
Timbal (Pb)	0,3 mg/L	0,28 mg/L	0,36 mg/L	0,31 mg/L	0,05 mg/L
Cadmium (Cd)	0,17 mg/L	0,27 mg/L	0,18 mg/L	0,21 mg/L	0,005 mg/L
pH	6,05	6,09	6,58	6,24	6,5-9,0

(*): Peraturan Menteri Kesehatan RI no: 907/MENKES/VII/2002

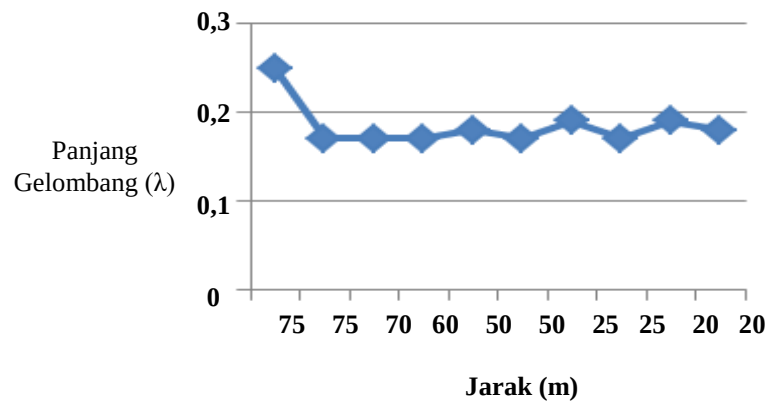
Dalam penelitian ini juga diukur nilai pH, kandungan logam Pb dan Cd pada beberapa sumur galian masyarakat di sekitar TPA. Untuk mendapatkan data akurat, dilakukan pengukuran jarak TPA sampah dari sumber sampel. Hasil pengukuran selengkapnya ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 1. Hasil analisis menyatakan bahwa semakin dekat jarak sumur dengan TPA maka akan semakin tinggi kadar Pb dalam air sumur, diakibatkan adanya akumulasi gas Pb di udara yang berasal dari asap kendaraan bermotor dengan bahan bakar bensin (Fardiaz, 1992). Adanya embun pada malam hari mengakibatkan kristal-kristal pada jatuh ke tanah dan sebagian lagi langsung masuk terakumulasi dengan air sumur yang tidak dilengkapi penutup sumur (Gamma, 2002).

Tabel 3. Nilai pH dan kadar logam Pb dan Cd berdasarkan jarak sumber sampel dengan TPA

No	Jarak dari TPA (m)	pH	Pb (mg/L)	Cd (mg/L)
1	75	5,23	0,25	0,25
2	75	5,03	0,30	0,17
3	70	6,05	0,31	0,17
4	60	5,8	0,32	0,17
5	50	5,8	0,26	0,18
6	50	5,27	0,29	0,17
7	25	7,66	0,27	0,19
8	25	6,23	0,34	0,17
9	20	7,8	0,27	0,19
10	20	6,7	0,32	0,18

Gambar 1 menunjukkan bahwa, semakin dekat jarak sumur dengan TPA maka akan semakin tinggi kadar Cd dalam air sumur. Ini bertentangan dengan pernyataan Cunningham & Saigo (1995), yang menyatakan bahwa dalam perjalanan mencapai lapisan-lapisan tanah dengan ukuran pori-pori bermacam-macam maka kadar Cd akan banyak tertahan dan akibat oleh butiran-butiran tanah mengakibatkan konsentrasinya pada sumur lebih kecil. Sedangkan Hart (2001) menyatakan bahwa kemungkinan tingginya kadar Cd dalam sumur disebabkan oleh tanah yang di atas akuifer bebas itu bocor, sehingga masuknya bahan pencemar (Cd) ke dalam aliran air tanah. Sesuai dengan penelitian Mardani

(1991) yang melaporkan jarak sumur galian dengan TPA (10 m – 100 m) air sumur tercemar logam Cd sebesar 0,20 mg/liter.



Gambar 1. Hasil pengukuran kadar logam Cd berdasarkan jarak sampel

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian ini diperoleh kesimpulan bahwa kadar logam Pb dan Cd pada air sumur galian penduduk di sekitar TPA Muara Fajar melampaui ambang batas yang diperbolehkan. Semakin jauh jarak sumur galian dengan lokasi TPA, semakin berkurang kadar Pb dan Cd maupun nilai pH dalam air.

DAFTAR PUSTAKA

- Cunningham WP, & Siago BW. 1995. *Environmental Sciences. A Global Concern* Wm C. Brown Publisher, Chicago-London-Sydney-Toronto.
- Gamma. 2002. *Info Lingkungan Hidup* (Program Kali Bersih). Jakarta
- Hanifah AT. 2002. Limbah Perkotaan Biang Permasalahan. *Jurnal Industri dan Perkotaan*, 8(2):45-50.
- Hart J. 2001. Water Pollution. ®Online Encyclopedia (<http://encarta.msn.com>).
- Hefni E. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius: Yogyakarta.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

- Pagoray. 2002. Kandungan Merkuri dan Kadmium Sepanjang Kali Donan Kawasan Industri Cilacap. Frontir No. 33 Maret 2001.
- Rand MC, Greenberg AE, & Taras MJ. 1975. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 14th ed. American Public Health Association: Washington DC.
- Slamet JS. 1994. *Kesehatan Lingkungan*. UGM Press: Yogyakarta
- Stigliani WP. 1997. Metals Loading of The Environment. Cadmium in the Rain Basin [dalam Industri Ecology and Global Change]. Chambridge University Press: Cambridge.

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI TiO₂ NANOSHEET DARI
LIMBAH TETRA BUTOKSI TITANAT (TBT) UNTUK
DEGRADASI SENYAWA 1,4-DIOKSAN**
(*Syntesis and Characterization of TiO₂ Nanosheet Derived From Waste of Tetra
Butoxyde Titanate and Its Capability of Degrading 1.4-Dioxane Compound*)

Mohamad Junaedi^{1,2}, Ridla Bakri¹, & Adi Santoso^{2,3}

¹Departemen Kimia, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

² Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Cilegon, Indonesia

³Puslitbang Hasil Hutan, Bogor

*Email/telp: Mohamad.junaedi@stakc.ac.id/085946833946

ABSTRAK

Limbah tetra butoksi titanat (TBT) merupakan limbah B3 yang masih mengandung TiO₂ (titanium dioksida) cukup tinggi. Dengan sistem fotokatalisis, TiO₂ dapat dimanfaatkan untuk mendegradasi senyawa 1,4-dioksan yang sulit didegradasi dalam lingkungan karena sifatnya yang stabil, daya adsorbsinya kecil serta toksik. Titanium dioksida disintesis dari Limbah TBT dengan menggunakan metode hidrotermal. Hasil sintesis, dilakukan kalsinasi pada 70 °C, 400 °C, dan 700 °C untuk mengetahui pengaruh kalsinasi terhadap TiO₂. Karakterisasi dilakukan dengan TEM, DRS, FTIR, XRD dan BET untuk mengetahui sifat dan karakter TiO₂. Untuk meningkatkan daya degradasi TiO₂ dalam sistem fotokatalisis, dilakukan pembentukan katalis komposit dengan *carbon nanotube* (CNT) yang divariasikan konsentrasinya (0%, 1%, 2%, 3%, 5%). Pengujian degradasi senyawa 1,4-dioksan dengan sistem fotokatalisis menggunakan katalis TiO₂ dan katalis komposit TiO₂/CNT dilakukan dalam reaktor dengan sumber cahaya UV 10 watt ($\lambda = 254$ nm). Hasil penelitian disimpulkan TiO₂-nanosheet berhasil disintesis dari limbah TBT dengan karakteristik: ukuran kristal 17,73 nm, % kristalinitas 90,3%, energi pita celah 3,46 eV, luas permukaan spesifik BET 20,37 m²/g. Sistem fotokatalisis yang optimum yaitu sistem fotokatalisis komposit TiO₂/CNT-1%, mampu mendegradasi senyawa 1.4-Dioksan dengan konversi % degradasi mencapai 73,5% dengan waktu kontak 90 menit.

Kata kunci: Sintesis TiO₂, TiO₂-nanosheet, degradasi 1,4-Dioksan, karbon nanotube

ABSTRACT

A utilization of a chemical waste to reprocess other waste can be considered as an environmental conservation. In this study, we investigate the capability of a composite material consisting of carbon nanotubes (CNT) and titanium dioxide (TiO₂) composites in degrading the 1,4-dioxane. It is widely known that 1,4-dioxane is both toxic and harmful for human and environment, thus degrading this compound is crucial. We used tetra butyl titanate (TBT) waste to synthesize titanium dioxide (TiO₂) using hydrothermal method with a varied temperature of 70 °C, 400 °C, and 700 °C. The degradation level of composite material was further studied via varying the CNT concentration (0%, 1%, 2%, 3% and 5%) under UV photo sources ($\lambda = 254$ nm). TEM, DRS, FTIR, XRD and BET were

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

used in order to characterize the as-prepared materials. The results show that TiO₂ nanosheet could be successfully obtained from the hydrothermal process of TBT with crystal lattice of 17.73 nm, crystallinity of 90.3%, band gap of 3.46 eV and surface area of 20.37 m²/g. We found that the optimum condition for photocatalytic performance was achieved at CNT concentration of 1%, resulting in a degradation level of 73.5% for 90 min.

Key words: *Synthesis of TiO₂, carbon nanotube, tetra butoxyde titanate, TiO₂-nanosheet 1,4-dioxane*

1. PENDAHULUAN

Dalam fotokatalisis, untuk meningkatkan daya degradasi polutan, salah satu faktor pentingnya adalah menurunkan rekombinasi pasangan *electron-hole* (e-h). Beberapa cara sudah dipelajari di antaranya optimalisasi ukuran partikel, menambahkan gugus fungsi, menambahkan logam, membuat komposit semikonduktor dan menambahkan material pendukung (Carp *et al.*, 2004). Kombinasi Karbon nanotube (CNT) dengan titania (TiO₂) sebagai komposit fotokatalisis banyak dipelajari oleh saintis (Bouazza *et al.* 2009; Wang *et al.* 2009; Woan *et al.* 2009; Oh *et al.* 2010; Duong *et al.* 2011; Sampaio *et al.* 2011; Saleh and Gupta, 2012; Thu *et al.* 2012). Tujuan dari penelitian mengkombinasikan karbon nanotube dengan titania ini adalah meningkatkan pemisahan pasangan elektron-hole (e-h) dan menurunkan rekombinasi dari keduanya.

Aplikasi fotokatalisis degradasi senyawa 1,4-dioksan dengan menggunakan fotokatalitik komposit titania/karbon nanotube ini adalah yang pertama. Penelitian sebelumnya terkait degradasi 1,4-dioksan dengan proses oksidasi lanjut pernah dilakukan dengan metoda fenton (Hermosilla *et al.*, 2011). Penelitian tersebut menghasilkan konversi degradasi sebesar 60%. Tujuan dari penelitian ini adalah menghasilkan produk partikel nano TiO₂-nanosheet dari limbah TBT dan mendapatkan kondisi optimum fotokatalisis dalam mendegradasi senyawa 1,4-dioksan.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan cara ekperimental meliputi: sintesis fotokatalis TiO₂, sintesis fotokatalis TiO₂/Karbon *nanotube* dan aplikasinya uji degradasi senyawa 1,4-dioksan.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol timbang, spatula, piala gelas, neraca analitik, pengaduk magnetik, *vacuum oven*, tanur, *thermostate*, botol polipropilena, autoklaf, pipet tetes, pipet volumetrik, *X-ray diffractometer* (XRD), kotak reaktor fotokatalisis, ultrasonik, instrumen *Brunauer, Emmett and Teller* (BET), *transmission electron microscopy* (TEM), *Fourier transform infra red* (FTIR), *diffuse reflectance spectroscopy* (DRS), dan gas kromatografi dengan *flame ionization detector* (FID).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah tetrabutoksi titanat ($\text{Ti}(\text{Obu})_4$) dari PT. Mitsubishi Chemical Indonesia, 1,4-dioksan 99,9%, karbon nanotube jenis MWCNT Sigma Aldrich, HF 45%, natrium hidroksida, asam klorida, air deionisasi, etanol. Semua bahan merupakan grade analitis (Merck) kecuali dijelaskan terpisah.

Prosedur Penelitian

Sintesis TiO_2 dari Limbah TBT

Sintesis dari Limbah $\text{Ti}(\text{Obu})_4$ dilakukan dengan memipet 30 mL limbah $\text{Ti}(\text{Obu})_4$ ke dalam tabung polipropilena 50 mL. Ditambahkan sebanyak 2 mL HF 45%. Dipanaskan di dalam autoklaf pada suhu 180 °C selama 24 jam. Endapan yang terbentuk kemudian dipisahkan dengan penyaringan dan pencucian menggunakan etanol secara berturut-turut. Kemudian pencucian dilakukan dengan air deionisasi panas. Endapan yang telah dicuci kemudian dipanaskan pada suhu 70 °C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan untuk kalsinasi pada temperatur 400 °C dan 700 °C selama 2 jam. Karakterisasi nano partikel TiO_2 dilakukan menggunakan instrumen XRD, FTIR, DRS, BET dan TEM (Han *et al.*, 2009).

Sintesis Katalis Komposit TiO_2/CNT

Metode sonikasi hidrotermal digunakan untuk sintesis katalis komposit TiO_2 dan karbon nanotube (CNT). Ditambahkan Karbon nanotube (sesuai variasi (1%, 2%, 3% dan 5% terhadap berat katalis TiO_2) dan dicampurkan ke dalam 90 mL air deionisasi dan 30 mL etanol, kemudian sonikasi selama 1 jam.

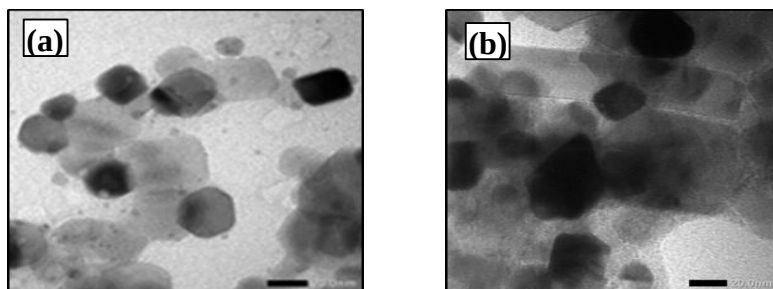
Ditambahkan 3 g katalis TiO_2 ke dalam suspensi CNT. Kemudian sonikasi dilanjutkan sampai 2 jam hingga tercampur dengan homogen dan membentuk suspensi berwarna abu-abu. Kemudian suspensi diletakkan di dalam autoklaf berlapis teflon dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 3 jam. Setelah didinginkan pada suhu ruangan, suspensi disaring dan dicuci beberapa kali menggunakan air deionisasi. Suspensi kemudian dikeringkan pada suhu ruangan. Selanjutnya dikarakterisasi dengan Instrumen TEM, DRS, FTIR, XRD dan BET (Pan *et al.*, 2013)

Uji degradasi senyawa 1,4-dioksan

Fotokatalis komposit TiO_2/CNT sebanyak 100 mg dicampurkan ke dalam 300 mL sampel air limbah 1,4-dioksan sintetik (konsentrasi ± 20 ppm) dan diaduk secara kontinyu dengan *magnetic stirrer* selama percobaan. Waktu degradasi dimulai saat lampu UV (lampu merkuri tekanan rendah, 10 Watt) dinyalakan. Kemudian dilakukan sampling 5 ml pada setiap waktu pengamatan reaksi fotodegradasi 1,4-dioksan pada waktu 15, 30, 45, 60, dan 90 menit. Semua sampel setelah disentrifugasi selama 5 menit, cairan bening dianalisis kandungan senyawa 1,4-dioksan dengan Gas Kromatografi-FID. Efektifitas fotodegradasi dilakukan dengan membandingkan selisih pengurangan kandungan 1,4-dioksan selama waktu tertentu dengan kandungan 1,4-dioksan sebelum dilakukan proses fotodegradasi.

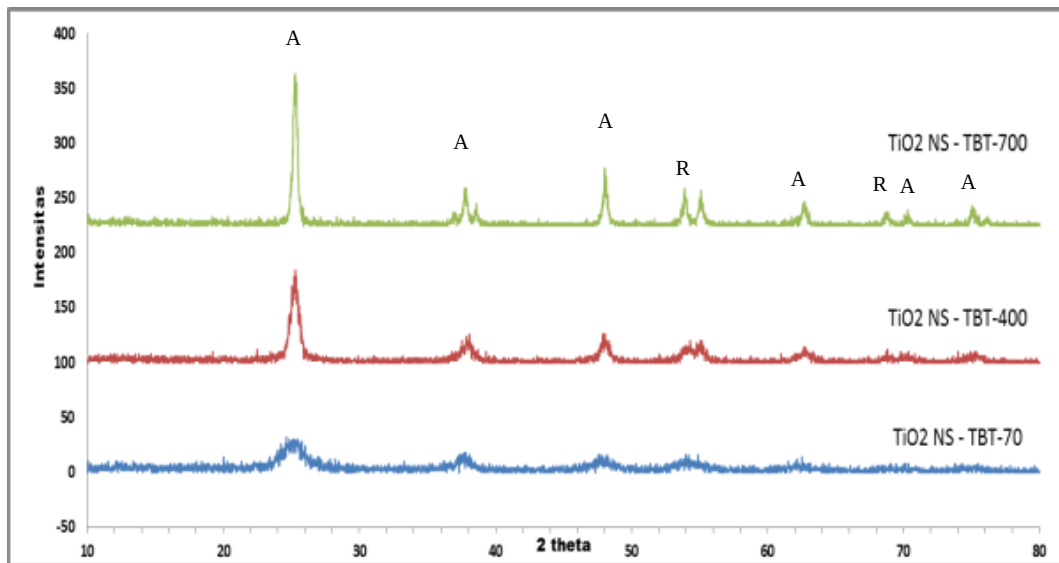
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil karakterisasi dengan TEM menunjukkan bahwa TiO_2 hasil sintesis adalah *nanosheet* dengan ukuran rata-rata: 36,8 nm x 31,1 nm (panjang x lebar). Mikrograf dari hasil analisis TEM ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Mikrograf TEM (a) TiO_2 dan (b) $\text{TiO}_2\text{-CNT}$

Analisis sintesis TiO_2 dengan XRD dilakukan bertujuan untuk mendapatkan informasi bentuk dan ukuran kristal serta menentukan fase mineral anatase atau rutil. Komposisi anatase dan rutil sangat menentukan aktifitas fotokatalisis dari TiO_2 . Kristal yang diinginkan dalam sintesis ini adalah fase kristal (101) anatase, karena memiliki aktifitas fotokatalisis yang terbaik (Kochkar *et al.*, 2014).



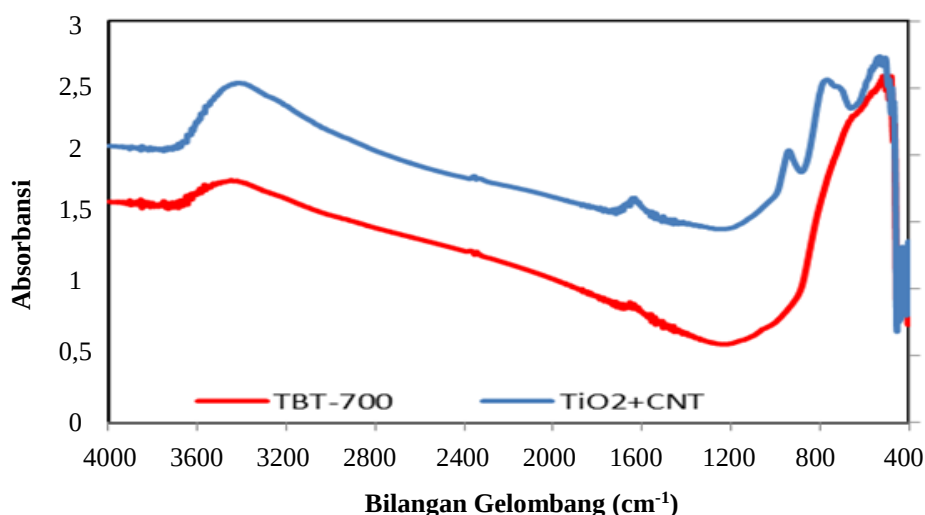
Gambar 2. Difraktogram XRD TiO_2 hasil sintesis dari Limbah TBT dengan suhu kalsinasi masing-masing 70 °C, 400 °C dan 700 °C

Intensitas tertinggi di puncak difraksi pada 25,30 dan dari puncak tersebut dengan persamaan Debye-Scherrer dapat diketahui ukuran kristal TiO_2 nanosheet dan komposisi anatase dan rutil, dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1. Kristalinitas partikel TiO_2 nanosheet dapat diamati dari data lebar maksimum setengah puncak *full width at half maximum* (FWHM). Data FWHM menunjukkan semakin tinggi suhu kalsinasi maka kristalinitas partikel TiO_2 semakin meningkat. Hal ini terkait dengan ukuran kristal yang semakin besar karena terjadi fase anatase menuju rutil pada suhu tinggi.

Tabel 1. Ukuran kristal, nilai kristalinitas dan komposisi anatase dan rutil dalam TiO₂ yang dikalsinasi berbagai temperatur

Sampel	FWHM (2 θ)	Ukuran kristal (L) (nm)	Kristalinitas (%)	Kadar anatase (%)	Kadar rutil (%)
TiO ₂ NS-TBT-70	1,46	4,3	44,9	93,5	6,5
TiO ₂ NS-TBT-400	0,75	8,4	66,4	87,8	12,2
TiO ₂ NS-TBT-700	0,357	17,7	90,3	81,5	18,5
TiO ₂ /CNT	0,06	105,5	59,7		

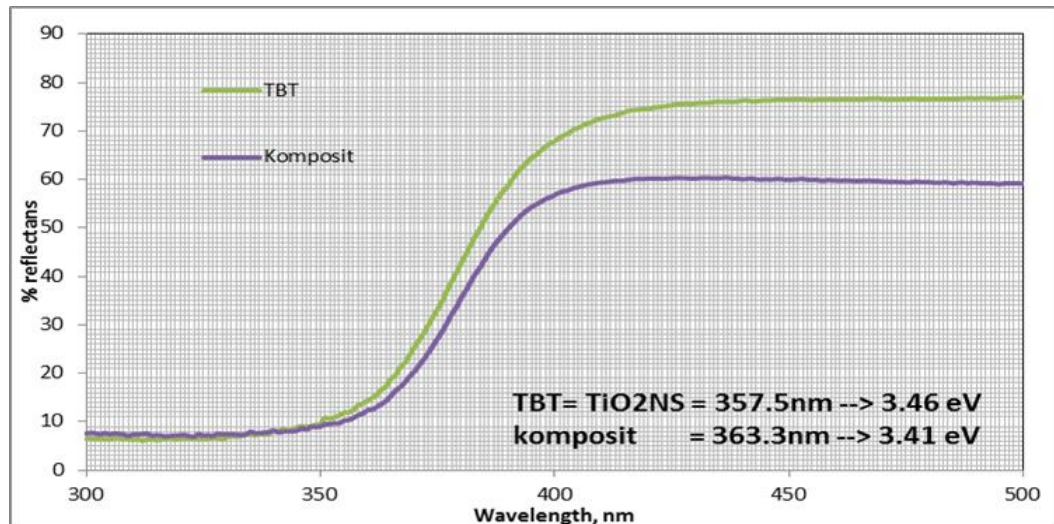
Bentuk kristal TiO₂ setelah dikomposit dengan CNT mengalami perubahan dilihat dari perbedaan profil difraktogramnya. Kristalinitas katalis TiO₂ turun dari 90,3% menjadi 59,7% setelah menjadi komposit dengan CNT. Hal ini menunjukkan bentuk amorf yang lebih dominan.



Gambar 3. Perbandingan spektra absorbansi FTIR TiO₂/CNT dengan TiO₂ tanpa CNT

Analisis gugus fungsi dengan FTIR, dilakukan untuk melihat karakteristik gugus fungsi. Hasil Spektrum absorbansi FTIR untuk katalis komposit dibandingkan dengan katalis TiO₂ *nanosheet* dapat dilihat pada Gambar 3. Intensitas Absorbansi untuk katalis komposit TiO₂/CNT lebih besar dibandingkan tanpa CNT. Hal ini adalah faktor CNT yang memberikan absorbansi yang cukup besar juga untuk panjang gelombang yang diserap. Spektra khas dari TiO₂ terlihat jelas di panjang gelombang 830 – 880 cm⁻¹ dan serapan vibrasi -OH, yang menunjukkan adanya absorpsi molekul air pada permukaan oksida TiO₂ (Enriquez *et al.*, 2014).

Analisis energi pita celah dengan DRS, tujuannya adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan CNT terhadap pita celahnya. Gambar 4 merupakan perbandingan spektrum reflektans dari TiO₂ *nanosheet* sebelum dan setelah dikomposit dengan CNT.



Gambar 4. Spektrum reflektans dari TiO₂ *nanosheet* sebelum dikomposit dan setelah dikomposit dengan CNT

Energy band gap atau energi pita celah untuk katalis komposit turun dari 3,46 eV menjadi 3,41 eV. Intensitas reflektansnya juga turun dari kisaran maksimum 75% menjadi 60%. Hal ini disebabkan oleh permukaan katalis sudah dilapisi oleh CNT yang bersifat menyerap intensitas sinar dan direfleksikan oleh sampel.

Tabel 2. Hasil BET fotokatalis TiO₂ *nanosheet* dan komposit TiO₂/CNT

Subyek pengukuran	Sampel TiO ₂	Sampel TiO ₂ /CNT
Luas permukaan spesifik BET (m ² /g)	20,37	36,59
Ukuran diameter pori rerata (nm)	23,93	18,91
Volume total pori (cm ³ /g)	0,106	0,098
Ukuran partikel rerata (nm)	295	164

Analisis BET bertujuan untuk mengetahui perubahan luas permukaan spesifik, diameter pori rerata dan ukuran total pori sebelum dan setelah dibuat katalis komposit. Penambahan CNT meningkatkan luas permukaan spesifik BET dari 20,37 m²/g menjadi 36,59 m²/g (79,6% lebih besar dari sebelumnya). Demikian pula ukuran diameter pori rerata, volume total pori dan ukuran partikel reratanya menjadi lebih kecil setelah ditambah CNT. Hasil uji degradasi

menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi CNT mampu meningkatkan penurunan konsentrasi senyawa 1,4-dioksan.

Tabel 3. Uji fotokatalis TiO_2/CNT untuk degradasi senyawa 1,4-dioksan*)

Sampel uji	Konsentrasi dioksan (ppm)				
	Waktu reaksi (menit)				
	15	30	45	60	90
TBT-Komposit CNT 0%	18,1	15,7	14,5	11,9	10,6
TBT-Komposit CNT 1%	14,1	13,6	12,4	9,8	5,7
TBT-Komposit CNT 2%	14,6	14,0	12,9	10,3	6,6
TBT-Komposit CNT 3%	15,8	14,4	11,9	10,5	8,3
TBT-Komposit CNT 5%	15,2	14,5	12,8	10,9	8,9

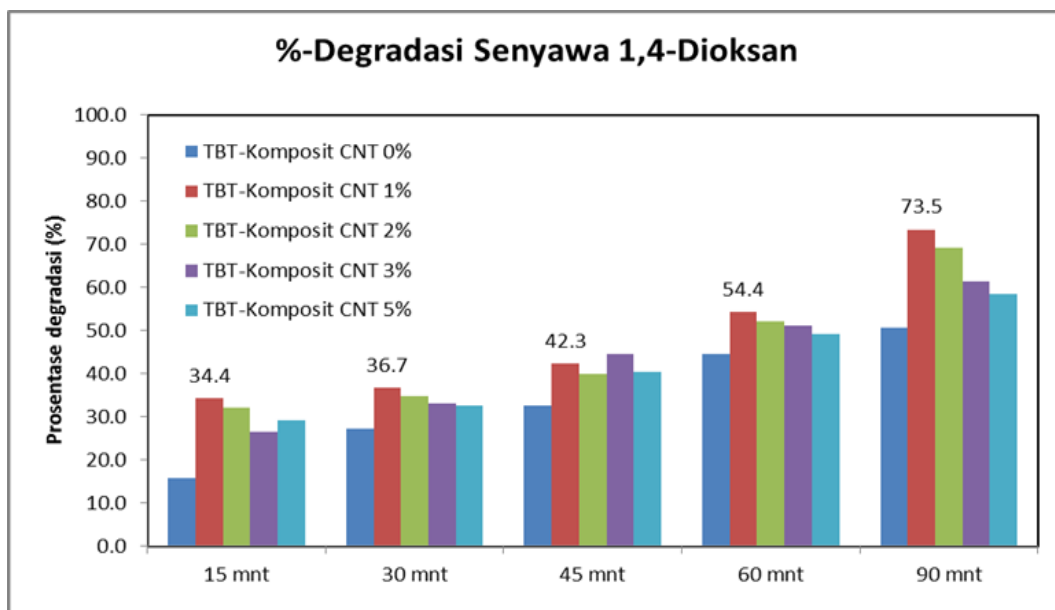
*) Data diambil secara simplot dan konsentrasi awal 1,4-dioksan adalah 21,5 ppm

Untuk mengetahui pengaruh masing-masing faktor yaitu faktor penambahan konsentrasi CNT dan faktor waktu reaksi terhadap keragaman data, maka data diuji dengan anava 2 faktor tanpa replikasi yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Anava untuk uji degradasi 1,4-dioksan dengan katalis komposit TiO_2/CNT

Sumber variasi	Jumlah kuadrat-kuadrat	Derajat kebebasan	Rata-rata jumlah kuadrat	F hitung	P-value	F tabel
Sampel uji	26,37	4	6,59	15,01	0,00	3,01
Waktu reaksi	182,54	4	45,64	103,89	0,00	3,01
Error	7,03	16	0,44			
Total	215,94	24				

Berdasarkan uji anava dapat dilihat bahwa faktor sampel uji dan waktu reaksi keduanya memberikan pengaruh terhadap keragaman data konsentrasi 1,4-dioksan karena nilai F hitung lebih besar dibandingkan F tabelnya. Data ini membuktikan bahwa penambahan konsentrasi CNT dan waktu reaksi berpengaruh terhadap perubahan nilai konsentrasi senyawa 1,4-dioksan.



Gambar 5. Hubungan antara waktu reaksi dengan persen degradasi 1,4-dioksan untuk katalis komposit TiO_2/CNT

Berdasarkan Gambar 5, dapat dilihat bahwa hampir semua sampel uji memberikan pola yang sama yaitu % degradasi meningkat dengan bertambahnya waktu. Namun di waktu reaksi 90 menit bisa dilihat perbedaan yang jelas posisi % degradasi untuk senyawa 1,4-dioksan, di mana sampel uji yang menggunakan konsentrasi CNT 1% ada pada posisi paling besar dan berturut-turut CNT 2%, CNT 3%, CNT 5% dan tanpa diberi CNT memperoleh % degradasi yang lebih rendah.

Penambahan konsentrasi CNT tidak lagi memberikan kenaikan pada % degradasi dikarenakan CNT yang terlalu banyak akan menutupi permukaan katalis, sehingga oksidasi senyawa 1,4-dioksan yang harusnya terjadi di permukaan katalis terhambat oleh CNT ini. Berdasarkan data di atas, sistem fotokatalisis yang paling optimum adalah sistem fotokatalisis komposit dengan waktu reaksi 90 menit mampu mendegradasi senyawa 1,4-dioksan sebanyak 73,5%. Bila dibandingkan antara yang menggunakan CNT (komposit) dan yang tidak menggunakan CNT, maka terjadi peningkatan sebesar 79,5% untuk yang menggunakan CNT, dari % degradasi 50,6% menjadi 73,5%.

4. KESIMPULAN

Titanium dioksida *nanosheet* (TiO₂-*nanosheet*) berhasil disintesis dari limbah tetra butoksi titanat. Bahan hasil sintesis ini setelah dikarakterisasi dinyatakan dapat digunakan sebagai fotokatalis. Senyawa 1,4-dioksan dapat didegradasi dengan sistem fotokatalisis dengan konversi % degradasi mencapai 73,5% dengan waktu reaksi 90 menit. Sistem fotokatalis yang optimum untuk mendegradasi senyawa 1,4-dioksan adalah sistem fotokatalis komposit TiO₂/CNT dengan konsentrasi CNT sebesar 1%.

DAFTAR PUSTAKA

- An GM. 2007. Preparation of Titania/Carbon Nanotube Composites Using Supercritical Ethanol and Their Photocatalytic Activity for Phenol Degradation Under Visible Light Irradiation. *Carbon* 45(9):1795-1801.
- Bouazza N, Ouzzine M, Lillo-Rodenas MA, Eder D, & Linares-Solano A. 2009. TiO₂ Nanotubes and CNT-TiO₂ Hybrid Materials for The photocatalytic Oxidation of Propene at Low Concentration. *Appl Catal B Environ* 92(3-4):377-383.
- Carp O, Huisman CL, & Reller A. 2004. Photoinduced Reactivity of Titanium Dioxide. *Prog Solid State Chem* 32(1-2):33-177.
- Diaz E, Ordonez S, & Vega A. 2007 Adsorption of Volatile Organic Compounds Onto Carbon Nanotubes, Carbon Nanofibers, and High Surface Area Graphites. *J Colloid Interface Sci* 305(1):7-16.
- Diebold U. 2002. Structure and Properties of TiO₂ Surfaces: a Brief Review. *Applied Physics A* 76: 1-7.
- Duncan B, Vavricka E, & Morrison R. 2004. A Forensic Overview of 1,4-Dioxane. *Enviromental Claim Journal* 2004;16.1 Pg 69.
- Duong TT, Nguyen QD, Hong SK, Kim D, Yoon SG, & Pham TH. 2011. Enhanced Photoelectrochemical Activity of TiO₂/ITO Nanocomposites Grown Onto Single-Walled Carbon Nanotubes at a Low Temperature by Nanocluster Deposition. *Adv Mater* 23(46):5557-5562.

- Gao B, Chen GZ, & Puma GL. 2009. Carbon Nanotubes/Titanium Dioxide (CNTS/TiO₂) Nanocomposites Prepared by Conventional and Novel Surfactant Wrapping Sol–Gel Methods Exhibiting Enhanced Photocatalytic Activity. *Appl Catal B Environ* 89(3–4):503–509.
- Han X, Kuang Q, Jin M, Xie Z & Zheng L. 2009. Synthesis of Titania Nanosheets With a High Percentage of Exposed (001) Facets and Related Photocatalytic Properties. *Journal of the American Chemical Society* 131:3152.
- Meyyappan M (ed). 2005. Carbon Nanotubes: Science and Applications. CRC Press, Boca Raton.
- Feng Q, Yue YX, Wang WH, & Zhu HQ. 2014. First-Principle of Study on Anatase TiO₂ (101) Surface Adsorption of NO. *Chinese Physical Society and IOP Publishing Ltd. B*. Vol. 23, No.4. 043101.
- Saleh TA, Gupta VK. 2012. Photo-Catalyzed Degradation of Hazardous Dye Methyl Orange by Use of a Composite Catalyst Consisting of Multi-Walled Carbon Nanotubes and Titanium Dioxide. *J Colloid Interface Sci* 371:101–106.
- Thu HTV, Thu TTN, Phuong HTN, Do MH, Au HT, Nguyen TB, Nguyen DL, & Park JS. 2012. Fabrication of Photocatalytic Composite of Multi-Walled Carbon Nanotubes/TiO₂ and Its Application For Desulfurization of Diesel. *Mater Res Bull* 47(2):308–314.
- Wang H, Wang HL, Jiang WF, & Li ZQ. 2009. Photocatalytic Degradation of 2,4-Dinitrophenol (DNP) by Multi-Walled Carbon Nanotubes (MWCNTs)/TiO₂ Composite in Aqueous Solution Under Solar Irradiation. *Water Res* 43(1):204–210.
- Wang WD, Serp P, Kalck P, Silva CG, & Faria JL. 2008. Preparation and Characterization of Nanostructured MWCNT–TiO₂ Composite Materials For Photocatalytic Water Treatment Applications. *Mater Res Bull* 43(4):958–967.
- Zhao Z, Li Z, & Zou Z. 2012. Structure and Properties of Water on the Anatase TiO₂ (101) Surface: from Single-Molecule Adsorption to Interface Formation. *ACS. The Journal of Physical Chemistry C*, 116. 11054–11061.

**SENYAWA TRITERPENOID DARI TUMBUHAN
MANGROVE (*Sonneratia alba*)
(*Triterpenoid Compound From Mangrove Plant (*Sonneratia alba*)*)**

Weny J A Musa¹, Suleman Duengo¹ dan Rahmawati H Tahir¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo
Email/Telp: weny@ung.ac.id/ 082163168776

ABSTRAK

Tumbuhan mangrove (*Sonneratia alba*) tumbuh pada wilayah pantai dan memiliki adaptasi yang unik untuk menghadapi tekanan lingkungan. Masyarakat pesisir di Indonesia salah satunya di daerah Kabupaten Bintan Provinsi Kepulauan Riau, secara tradisional telah memanfaatkan mangrove untuk pengobatan penyakit sesak nafas dengan cara meminum air hasil rebusan daunnya. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan mangrove. Isolasi senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode kromatografi. Karakterisasi senyawa dengan spektroskopi IR dan NMR. Berdasarkan hasil uji fitokimia dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi adalah senyawa golongan triterpenoid.

Kata kunci: isolasi, mangrove, triterpenoid

ABSTRACT

*Mangroves growing (*Sonneratia alba*) on the beach and has a unique adaptation to cope with environmental stresses. The coastal communities in Indonesia one of them in the district of Bintan Riau Islands Province, traditionally have utilized for the treatment of diseases mangrove shortness of breath by drinking water decoction of the leaves. This study aims to isolate the secondary metabolite compound from mangrove plants. Isolation of secondary metabolite compounds made by the method of chromatography. Characterization of compounds was done by using IR and NMR spectroscopies. The results of phytochemical test and characterization of secondary metabolite compounds that can be isolated is triterpenoids compound class.*

Key words: isolation, mangrove, triterpenoid

1. PENDAHULUAN

Masyarakat pesisir di Indonesia salah satunya di daerah Kabupaten Bintan Provinsi Kepulauan Riau, secara tradisional telah memanfaatkan mangrove untuk pengobatan penyakit sesak nafas dengan cara meminum air hasil rebusan daunnya (Yudi, 2014). Proses perebusan daun dengan air ini sesuai dengan metode ekstraksi cara panas. Air yang digunakan sebagai media pengobatan berfungsi sebagai pelarut senyawa-senyawa bioaktif yang ada pada daun mangrove tersebut, karena air ini merupakan jenis pelarut polar. Pelarut yang bersifat polar mampu

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

mengekstrak senyawa metabolit sekunder (Harborne, 1987). Potensi yang ada pada mangrove sebagai tanaman obat karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti yang dilaporkan oleh Yudi (2014) yang menjadikan tanaman ini perlu diteliti dan diuji secara ilmiah guna menjamin keamanannya sebagai obat sekaligus peningkatan mutunya.

Mangrove tumbuh dan berkembang pada wilayah pantai dan memiliki adaptasi yang unik untuk menghadapi tekanan lingkungan, yaitu berupa salinitas tinggi, temperatur tinggi, dan radiasi sinar matahari yang kuat (Kokpol, 1990). Salinitas dan radiasi sinar ultraviolet yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel tumbuhan (Xiong & Zhu, 2002; Jithest *et al.*, 2006). Tumbuhan yang dapat hidup pada daerah ekstrim seperti ini, tentu memiliki senyawa yang melindunginya dari kerusakan. Hal inilah yang menyebabkan tanaman ini memiliki potensi yang sangat baik untuk diteliti, terutama tentang senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

Berbagai jenis tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia dalam tumbuhan, sehingga sebagian tumbuhan dapat digunakan sebagai bahan obat. Tanpa adanya suatu senyawa bioaktif dalam tumbuhan secara umum tumbuhan tersebut tidak dapat digunakan sebagai obat (Jithest *et al.*, 2006).

Menurut Amaliah (2012), fungsi senyawa metabolit sekunder antara lain sebagai pertahanan tubuh bagi tumbuhan dari serangan hama dan patogen penyebab penyakit, sebagai atraktan hewan polinator dan sebagai hormon pengatur pertumbuhan. Bagi manusia, senyawa metabolit sekunder digunakan sebagai bahan obat-obatan, pewangi, fragran pada makanan dan minuman serta senyawa yang digunakan dalam industri kosmetika.

2. BAHAN DAN METODE

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, gunting, blender, oven, botol vial, erlenmeyer, cawan penguap, gelas

ukur, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, corong kaca, *rotary vacuum evaporator*, spektroskopi IR- Shimadzu dan spektrum ^1H NMR 500 MHz.

Sampel daun mangrove diambil di Desa Dulupi, Kecamatan Dulupi, Kabupaten Boalemo. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, metanol, etil asetat, *n*-heksana, pereaksi Liebermann Burchard, kloroform, etanol, H_2SO_4 pekat, dan silika gel.

B. Metode

Tahap preparasi sampel

Sampel daun mangrove diambil dalam kondisi segar berwarna hijau tidak cacat/utuh. Sampel daun mangrove dicuci dan dikeringkan, kemudian dipotong. Sampel daun mangrove selanjutnya dikering-anginkan di ruangan terbuka. Setelah itu sampel dihaluskan dengan menggunakan *blender*.

Tahap ekstraksi

Sampel daun mangrove yang telah halus dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Setiap 1 x 24 jam pelarut diganti dengan metanol yang baru. Demikian seterusnya, maserasi dihentikan sampai komponen kimia dalam daun mangrove terekstrak sempurna yang ditandai dengan pelarut pengestrak sudah bening atau ketika diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) tidak memperoleh noda.

Tahap uji fitokimia

Identifikasi triterpenoid menggunakan pereaksi yang sama yaitu sampel diekstrak menggunakan kloroform : air (1:1) kemudian ekstrak kloroform pereaksi Liebemann-Burchard, hasil uji menunjukkan positif triterpenoid dengan perubahan warna menjadi merah bata. Triterpenoid yang terdapat dalam tumbuhan berperan sebagai pelindung.

Pemisahan dan pemurnian

Ekstrak dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan menggunakan fasa diam silika gel dan fasa gerak *n*-heksana : etil asetat dengan teknik elusi bergradien. Hasil kromatografi kolom diuji kemurniannya dengan menggunakan KLT. Jika isolat menunjukkan pola noda tunggal pada KLT, maka dapat disimpulkan bahwa isolat murni telah diperoleh dari ekstrak kental tersebut.

Identifikasi senyawa dengan IR dan NMR

Isolat yang diperoleh diukur dengan spektroskopi ultra violet dan infra red untuk karakterisasi isolat dan identifikasi isolat tersebut dengan jurnal yang telah ditemukan pada daun mangrove. Berdasarkan hasil tersebut dapat diidentifikasi kelompok isolat yang ditemukan termasuk dalam kelompok metabolit sekunder yang mana.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi sampel penelitian

Daun tumbuhan mangrove diambil dari Kecamatan Dulupi. Sampel dicuci sampai bersih, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering diperoleh sebanyak 530 gram. Tujuan dari pengeringan adalah untuk menghilangkan kadar air dalam daun tumbuhan mangrove.

B. Ekstraksi

Sebanyak 530 gram sampel daun mangrove dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3×24 jam, di mana setiap satu kali perendaman pelarut metanol diganti dengan yang baru. Pelarut metanol digunakan dalam maserasi ini karena pelarut metanol diketahui sebagai pelarut universal yang dapat mengikat komponen senyawa kimia baik bersifat nonpolar, semi polar, dan polar. Maserat yang terkumpul kemudian dievaporasi pada suhu 45 °C. Ekstrak kental metanol yang diperoleh dari hasil evaporasi sebanyak 13 gram. Selanjutnya ekstrak kental metanol dilakukan uji fitokimia dan pemisahan untuk mendapatkan isolat murni.

C. Rendemen

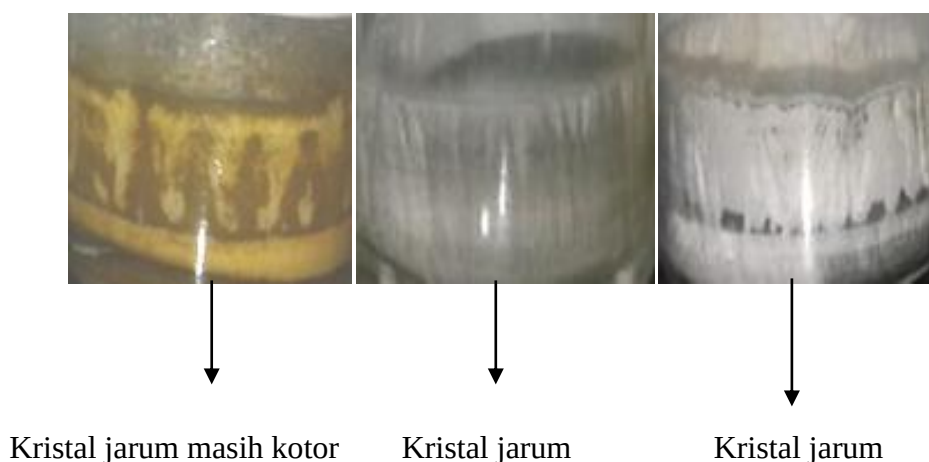
Rendemen merupakan persentase bagian bahan baku yang dapat digunakan atau dimanfaatkan dengan total bahan baku. Semakin tinggi nilai rendemen menandakan bahwa bahan baku tersebut memiliki peluang untuk dimanfaatkan lebih besar (Kusumawati *et al.*, 2008). Dalam proses ekstraksi rendemen ekstrak kental metanol yang diperoleh yaitu sebanyak 2,45%.

D. Pemisahan dan Pemurnian

Sampel yang telah diuji fitokimia kemudian dilakukan pemisahan dan pemurnian yang bertujuan untuk mendapatkan senyawa murni. Sebanyak 10 gram ekstrak metanol dipisahkan dengan kromatografi kolom bergradien. Pemisahan diawali dengan *packing* kolom yaitu dengan membuat *filter* dari kapas untuk menahan silika agar tidak keluar bersama pelarut. Kolom yang digunakan adalah kolom yang memiliki panjang 50 cm. *Packing* kolom dilakukan dengan cara kering, yaitu kolom diisi pelarut *n*-heksana terlebih dahulu kemudian dimasukkan silika gel sampai dengan ketinggian silika 20 cm ke dalam kolom dengan posisi kran dalam keadaan terbuka. Eluen dialirkan hingga silika gel padat selama beberapa jam dan didiamkan sampai satu malam. Tujuan kolom dielusi sampai silika gel benar-benar padat adalah untuk menghindari retakan dalam kolom sehingga diharapkan terjadi pemisahan yang maksimal.

Sampel yang akan dipisahkan dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, dalam hal ini ekstrak kental metanol dilarutkan dengan pelarut *n*-heksana sampai sedikit cair kemudian dimasukkan perlahan-lahan ke dalam kolom dengan kran terbuka serta tetesannya diatur. Ekstrak dielusi dengan eluen bergradien diawali dengan *n*-heksana 100% setelah itu *N*-heksana : etil asetat dengan perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, sampai etil asetat 100% dengan kenaikan kepolaran pelarut sebesar 10%. Hasil kromatografi kolom menghasilkan 62 fraksi. Fraksi-fraksi tersebut kemudian dianalisis KLT, untuk penggabungan fraksi. Hasil KLT mendapatkan 7 fraksi antara lain fraksi A (1-3) 0.0241 gram, fraksi B (4-10) 0.0253 gram, fraksi C (11-13) 0.1643 gram, fraksi D (14-23) 0.2425 gram, fraksi E (24-38) 0.2843 gram, fraksi F (39-49) 0.2994 gram, dan fraksi G (50-62) 0.3418 gram.

Pada fraksi C (vial nomor 11-13) terlihat pembentukan kristal jarum yang masih kotor sehingga dilakukan rekristalisasi dengan *n*-heksana dan etil asetat. Hasil rekristalisasi didapatkan kristal jarum berwarna putih dengan berat 0,1093 g dan pengotor sebanyak 0,0553 g (Gambar 1).



Gambar 1. Profil fraksi C yang ada kristal jarum berwarna putih

E. Uji Kemurnian

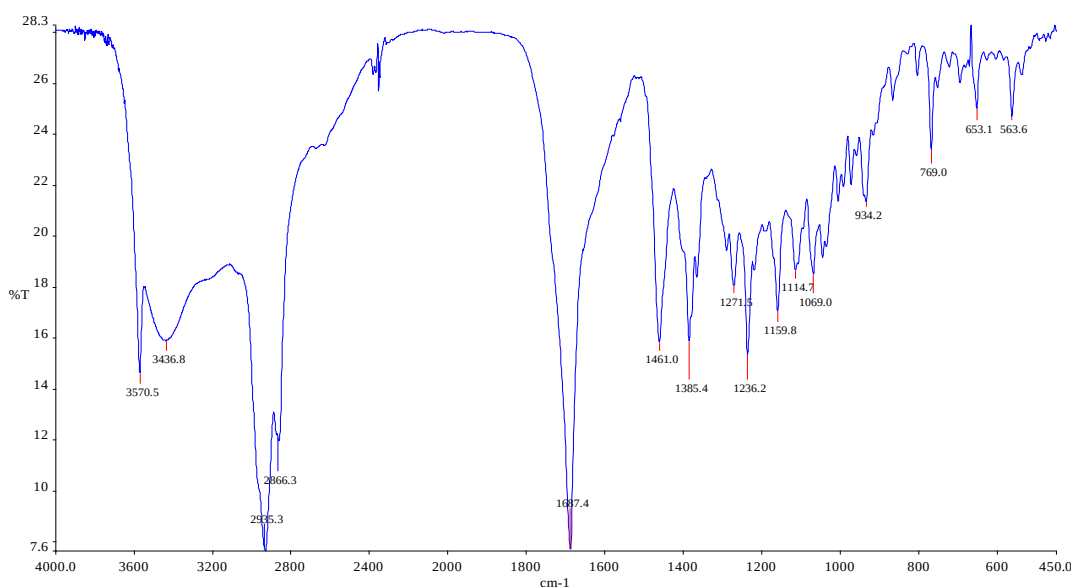
Isolat hasil rekristalisasi dianalisis KLT dengan eluen yang bervariasi yaitu campuran *n*-heksana : metilen klorida : aseton (9:1:0,5), *n*-heksana : aseton (9:1), *n*-heksana : etil asetat (9:1), dan etil : asetat : metanol (8:2) untuk melihat apakah hasil tersebut sudah menunjukkan pola noda tunggal. Isolat murni yang telah dianalisis KLT dengan eluen yang bervariasi, sebelum diidentifikasi lebih lanjut, diuji terlebih dahulu dengan menggunakan KLT dua dimensi. Tujuan dilakukannya KLT dua dimensi adalah untuk melihat apakah isolat ini benar-benar murni dengan eluen dan perbandingan yang berbeda. Perbandingan eluen yang digunakan yaitu campuran *n*-heksana : metilen klorida : aseton (9:1:0,5) M_1 dan *n*-heksana : etil asetat (9:1) M_2 . Hasil analisis menunjukkan pola noda tunggal pada plat KLT dengan harga R_f 0,34 untuk elusi pertama (M_1) dan 0,82 untuk elusi kedua (M_2).

F. Uji Fitokimia Isolat Murni

Hasil uji fitokimia senyawa yang terkandung dalam isolat murni positif triterpenoid, sementara pada uji alkaloid dan flavonoid hasilnya negatif. Hasil uji fitokimia dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan bahwa kandungan isolat murni diduga sebagai senyawa triterpenoid dengan perubahan warna menjadi merah bata. Hal ini dibuktikan dan didukung oleh data spektrofotometri infra merah dan NMR.

G. Hasil Analisis Infra Merah (IR)

Isolat murni yang merupakan fraksi hasil kromatografi kolom diidentifikasi dengan spektroskopi infra merah untuk melihat gugus fungsi yang terkandung dalam isolat (Gambar 2). Berdasarkan analisis spektrum IR pada Gambar 2 menunjukkan adanya gugus fungsi. Analisis data bilangan gelombang, intensitas, dan gugus fungsi dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Spektrum inframerah isolat (Fraksi C)

Tabel 1. Analisis spektrum infra merah isolat (Fraksi C)

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)					Bentuk pita	Intensitas	Gugus fungsi
Isolat	Silverstein <i>et al.</i> , 1984	Sudjadi 1983	Netti, 2011	Creswell <i>et al.</i> , 1982			
3570,5 3436,8	3550-3200	3350	3277- 3232	3000-3750	Tajam lebar	Lemah Lemah	Ulur O-H
2935,3 2866	2830-2695	2926-2853	2953	2700-3000	Lebar lebar	Kuat Lemah	Ulur C-H
1687,4	1667-1640	1610-1650	1612	1650-1900	Tajam	Kuat	Ulur C=C
1461,0	1420	1465	-	1300-1475	Tajam	Lemah	Tekuk O-H
1385,4	1330		1354	1330-1420	Lebar	Lemah	Tekuk C-H
1236,2	1000-1260	1205	-	1000-1300	Lebar	Lemah	Ulur C-O

Berdasarkan hasil analisis spektrum IR, senyawa isolasi memperlihatkan serapan panjang gelombang 3570,5 cm⁻¹ disebabkan oleh uluran gugus OH dengan bentuk pita tajam dengan intensitas lemah. Diperkuat dengan literatur yang ada yaitu adanya serapan pada daerah panjang gelombang 3550-3200 cm⁻¹

(Silverstein, 1984), serapan pada panjang gelombang 3000-3750 cm^{-1} merupakan serapan OH yang mempunyai ikatan hidrogen (Creswell, 1982).

Hasil pengukuran juga menunjukkan 2 serapan pita lebar yang muncul pada daerah spektrum bilangan gelombang 2935.3 cm^{-1} dan 2866 cm^{-1} yang merupakan uluran C-H. Hal ini tidak jauh beda dengan literatur yang ada yaitu pada serapan panjang gelombang 2830-2695 cm^{-1} (Silverstein, 1984), 2926-2853 (Sudjadi, 1983), dan 2953 (Netti, 2011). Identifikasi adanya cincin aromatik ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1687.4 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ulur C=C. Analisis ini diperkuat dengan literatur yang ada, dengan panjang gelombang yang tidak jauh berbeda yaitu 1667-1640 cm^{-1} (Silverstein, 1984), 1610-1650 (Sudjadi, 1983), dan 1650-1900 (Creswell, 1982).

Tekuk OH dengan bentuk pita tajam dan intensitas lemah memberikan serapan pada bilangan gelombang 1461.0 cm^{-1} . Hal ini didukung oleh data Silverstein (1984) yaitu 1420 cm^{-1} , Sudjadi (1983) yaitu 1465 cm^{-1} , dan Creswell (1982) yaitu 1300-1475 cm^{-1} . Tekuk CH dengan bentuk pita lebar memiliki intensitas lemah memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 1385.4 cm^{-1} . Data ini didukung oleh data bilangan gelombang Silverstein (1984) yaitu 1330 cm^{-1} , dan Creswell (1982) yaitu 1330-1420 cm^{-1} . Serapan lebar dengan intensitas lemah pada daerah bilangan gelombang 1236.2 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C-O yang didukung dengan data Silverstein (1984) yaitu 1000-1260 cm^{-1} , Sudjadi (1983) yaitu 1205 cm^{-1} , dan Creswell (1982) yaitu 1000-1300 cm^{-1} .

H. Analisis Spektrum ^1H -NMR Isolat Murni

Berdasarkan analisis spektrum ^1H -NMR seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 terdapat 50 proton sp^3 pada isolat murni yaitu berada pada rentang δ 0,70 – 4,70 ppm. Proton-proton ini terdiri atas tujuh gugus metil (CH_3), sebelas metilen (CH_2), dan lima metin (CH), satu metin (CH) mengikat atom oksigen yang ditunjukkan dengan adanya signal pada [δH (ppm) = 3,35 (1H, s)].

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliah. 2012. Dasar-Dasar Biokimia. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Creswell CJ, Runquist OA, & Campbell MM. 1982. Analisis Spectrum Senyawa Organik. ITB: Bandung.
- Kokpol U, Miles DH, Payne AM, & Chittawong V. 1990. Chemical Constituents and Bioactive Compounds from Mangrove Plants – in Atta-ur-Rahman, Studies in Natural Products Chemistry, (Ed), Vol. 7. Elsevier Science Publishers B. V, Amsterdam.
- Kusumawati RA, & Andrawulan N. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Tokokak (*Solanum torvum* S.). [Skripsi]. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan; Institut Pertanian Bogor.
- Netti H. 2011. Identifikasi Senyawa Bioaktif Tumbuhan Mangrove. Jurusan Fakultas MIPA UNM: Malang.
- Oktavianus S. 2013. Uji Daya Hambat Daun Mangrove Jenis *Avicinea marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi, Universitas Hassanudin, Makassar.
- Silverstein B, & Moril. 1984. Penyidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik Edisi K-4. Jakarta; Erlangga.
- Sudjadi. 1983. Penentuan Struktur Senyawa Organik. Yudistira. Fakultas Farmasi: UGM.
- Yudi. 2014. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder yang Terdapat pada Daun Mangrove Dengan Pelarut Berbeda. FIKP UMRAH.
- Souza AB, Souza MGM, Moreira MA, Moreira MR, Furtado NAJC, Martins CHG, Bastos JK, Santos RA, Heleno VCG, Ambrosio SR. & Veneziani RCS. 2011. Antimicrobial Evaluation of Diterpenes from *Copaifera langsdorffii* Oleoresin Against Periodontal Anaerobic Bacteria. *Molecules*. 16, 9611-9619.

**PENGARUH GETARAN DAN TEMPERATUR UDARA
TERHADAP KINERJA PROTON EXCHANGE MEMBRANE
FUEL CELL (PEMFC)**

*(Effect of Vibration and Air Temperature on The Performance of Proton
Exchange Membrane Fuel Cell (PEMFC))*

Micha Mahardika¹, Hary Devianto¹ dan Isdiriayani Nurdin¹

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung
E-mail/telp: micha.mahardika@gmail.com/082115071308

ABSTRAK

Penggunaan bahan bakar fosil pada alat transportasi menghasilkan emisi gas beracun yang dapat merugikan lingkungan. *Fuel cell* merupakan suatu alat elektrokimia yang dapat mengkonversi energi kimia menjadi energi listrik secara langsung dengan produk samping berupa air. *Proton exchange membrane fuel cell* (PEMFC) merupakan salah satu jenis *fuel cell* yang cocok diaplikasikan pada alat transportasi karena mampu beroperasi pada tekanan dan temperatur rendah, stabil, dan berukuran relatif kecil. Kondisi jalan normal menghasilkan getaran pada alat transportasi dalam rentang 20-250 Hz. Selain itu, karena letak mesin terisolasi, sehingga temperatur udara berpengaruh signifikan. Penelitian ini difokuskan untuk mempelajari pengaruh getaran, temperatur udara, dan beban arus konstan. Kinerja dari PEMFC dianalisis secara elektrokimia menggunakan metode *open circuit potential* (OCP), *chronopotentiometry*, *potentiodynamic*, dan *electrochemical impedance spectroscopy* (EIS). Peningkatan temperatur, getaran, dan beban arus mengakibatkan menurunnya daya maksimum PEMFC, meningkatnya tahanan *ohmic*, impedansi perpindahan muatan dan perpindahan massa.

Kata kunci: PEMFC, getaran, temperatur udara, karakterisasi elektrokimia

ABSTRACT

The use of fossil fuels in transportation produces toxic gas which will damage the environment. Fuel cell is an electrochemical device that directly converts the chemical energy into electricity with water as by-product. Proton exchange membrane fuel cell (PEMFC) is one of fuel cell type that is suitable for electric vehicle because of its stability, small dimension as well as its capability to operate at low pressure and temperature. Condition of the normal road will produce vibrations on vehicles in the frequency range of 20-250 Hz. In addition, the confined location of machine causes a significant effect on air temperature. This research is focused on studying the effect of vibration, air temperature, and constant load. The performance of PEMFC was analyzed using electrochemical characterization methods, such as the open circuit potential (OCP), chronopotentiometry, potentiodynamic, and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Increasing of air temperature, vibration and constant load result in reduced power of PEMFC, increased ohmic polarization, increased impedance of charge transfer and increased impedance of mass transfer.

Key words: PEMFC, air temperature, vibration, electrochemical characterization

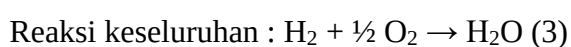
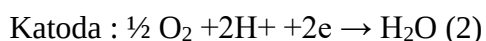
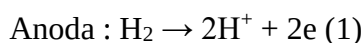
E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

1. PENDAHULUAN

Penggunaan bahan bakar fosil sebagai sumber energi memberikan dampak negatif terhadap lingkungan karena dapat menyebabkan terjadinya polusi udara, emisi gas rumah kaca dan menipisnya cadangan sumber energi alami. Untuk itu perlu dikembangkan sumber energi alternatif yang terbarukan dan ramah lingkungan. Suatu alat alternatif pada kendaraan yang lebih ramah lingkungan dibutuhkan untuk mengurangi penggunaan bahan bakar fosil. Salah satu teknologi yang diusulkan adalah *fuel cell*. *Proton exchange membrane fuel cell* (PEMFC) merupakan jenis *fuel cell* yang paling cocok diaplikasikan pada alat transportasi karena beroperasi pada tekanan dan temperatur rendah, berukuran kecil serta mobilitas tinggi. Motor bakar pada alat transportasi yang sedang bergerak akan menghasilkan getaran sesuai dengan kondisi jalan dan menghasilkan panas. Getaran tersebut masuk dalam rentang frekuensi sekitar 20-250 Hz dengan amplitudo yang cukup tinggi.

Motor bakar pada alat transportasi berada pada suatu *confined space*, sehingga temperatur udara di sekitarnya berpengaruh terhadap kondisi motor bakar. Sama halnya dengan motor bakar pada alat transportasi, dalam aplikasi PEMFC pada alat transportasi, temperatur udara dan getaran berpengaruh terhadap kinerja PEMFC. Oleh karena itu, pada penelitian ini dipelajari pengaruh getaran dan temperatur udara pada kinerja PEMFC.

Elektrolit yang digunakan dalam PEMFC adalah membran polimer penukar ion yang merupakan proton konduktor yang sangat baik (Williams, 2004). Polimer memiliki batasan operasi temperatur yaitu di bawah 100 °C, tetapi temperatur operasi yang digunakan lebih banyak pada kisaran 60 °C – 80 °C (Belkhiri, 2011). Prinsip dasar PEMFC yaitu reaksi oksidasi hidrogen pada anoda dan reduksi oksigen pada katoda. Persamaan berikut menunjukkan reaksi dasar PEMFC (Sammes, 2006):



Kehandalan PEMFC menjadi hal penting dalam aplikasi PEMFC terutama untuk alat transportasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi keandalan PEMFC di antaranya karakteristik material penyusun, kondisi operasi (kelembaban, temperatur, getaran), pengotor pada umpan anoda dan katoda, metode operasi (tunak dan kondisi *start-stop*), dan rancangan *stack* PEMFC (Yu *et al.*, 2012). Pendekatan *start-stop* sangat penting dilakukan pada PEMFC yang akan diaplikasikan pada kendaraan. Percobaan dengan pendekatan *start-stop* dilakukan sebelumnya dengan kondisi *start-stop* 10 detik OCP, 40 detik beban konstan, 10 detik OCP, dan 15 menit dimatikan (Oyarce *et al.*, 2011).

Temperatur udara pada PEMFC sangatlah penting pada kinerja dan kehandalan PEMFC. Penelitian tentang temperatur *stack* dilakukan sebelumnya oleh Kim dan Hong (2008) dengan variasi temperatur 60 °C dan 70 °C serta variasi kelembaban anoda dan atau katoda. Berdasarkan penelitian ini diketahui variasi temperatur tidak terlalu berpengaruh pada kinerja PEMFC dengan kondisi terbaik dicapai pada temperatur 70 °C dengan kelembaban anoda 100% dan kelembaban katoda 80%.

PEMFC dapat dikenai getaran di bawah suatu kondisi lalu lintas yang padat dalam aplikasi transportasi. Pengaruh getaran pada PEMFC dapat mengakibatkan percepatan pembentukan cacat yang berujung kepada kegagalan operasi PEMFC. Getaran dapat memperburuk cacat seperti lubang kecil, retak, yang mengakibatkan *cross-over* umpan, penurunan kinerja, dan mengurangi daya tahan. Penelitian terkait pengaruh getaran dilakukan sebelumnya oleh Diloan dengan getaran dalam rentang 20-40 Hz dengan percepatan 1-4 G diberikan pada lapisan katalis platina (Pt). Berdasarkan penelitian ini diketahui *stack* PEMFC yang tidak dikenai getaran memiliki kinerja yang paling rendah, dan kinerja terbaik PEMFC pada getaran 20 Hz dengan percepatan 1 G (Diloan *et al.*, 2012). Penelitian lainnya dilakukan oleh Rajalakshmi *et al.*, (2009) dengan getaran dalam rentang 20-200 Hz yang diberikan pada baut yang menempel pada *stack*. Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa getaran dalam rentang tersebut tidak menunjukkan adanya perubahan yang signifikan sebelum dan sesudah diberi getaran.

2. BAHAN DAN METODE

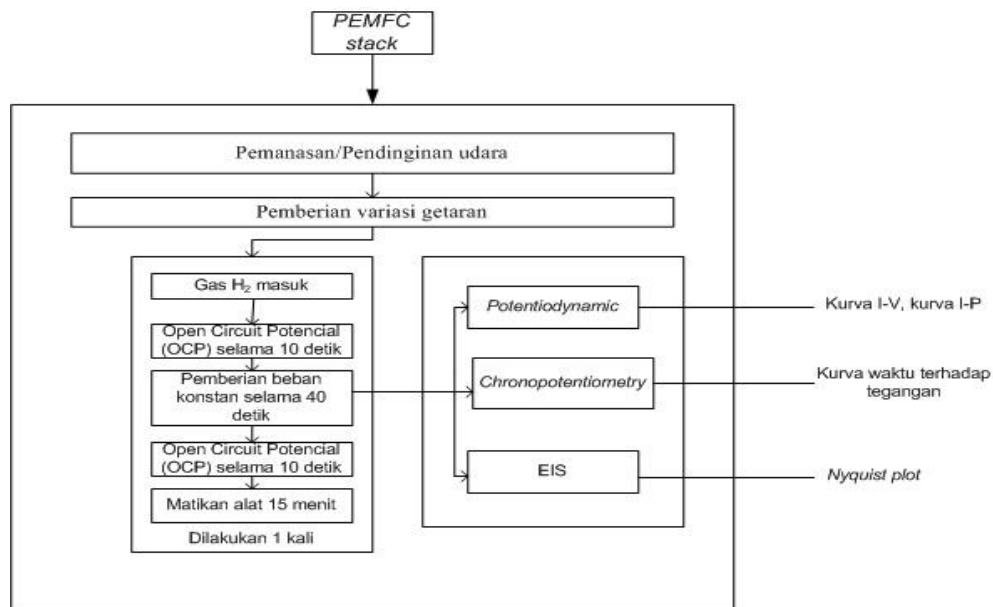
Penelitian dilakukan untuk melihat pengaruh getaran dan temperatur terhadap kinerja PEMFC.

A. Bahan dan Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa PEMFC *stack* komersil dengan daya maksimum 30 W merek Horizon, Potensiostat Gamry V3000 untuk karakterisasi elektrokimia, *ultrasonic bath* dan *heater*. Bahan yang digunakan berupa gas H₂ dengan kemurnian 99% sebagai umpan di anoda dan udara tekan sebagai umpan di katoda.

B. Metode

Diagram alir percobaan ditunjukkan pada Gambar 1. Prosedur kondisi nyala-mati mengacu pada penelitian Oyarce (Oyarce *et al.*, 2011).



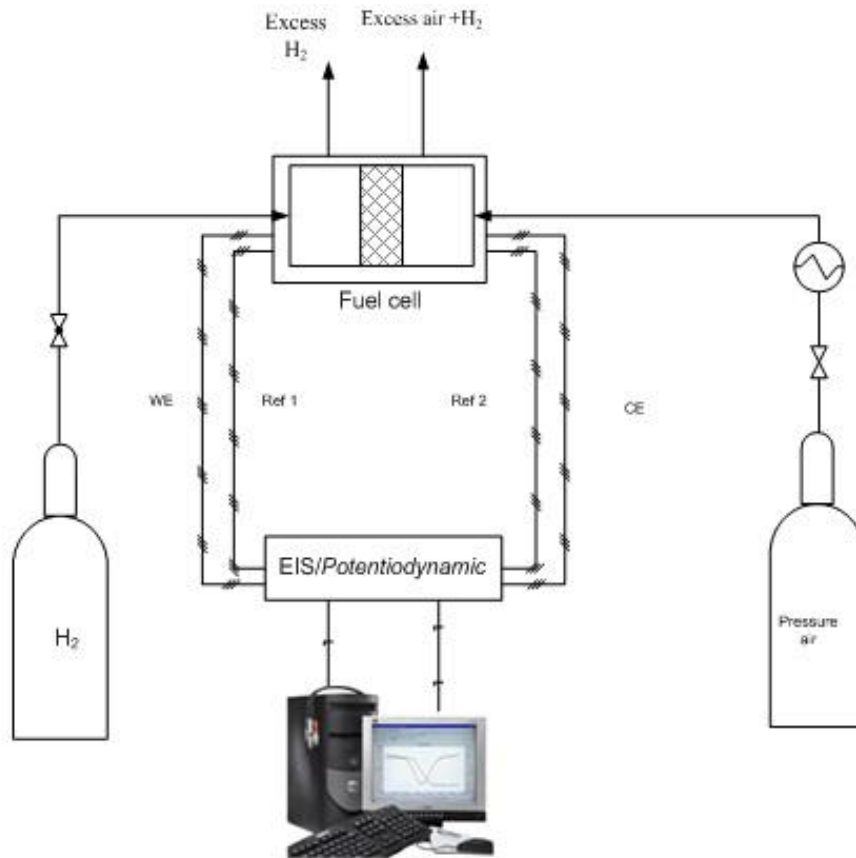
Gambar 1. Diagram alir percobaan

Variasi getaran yang digunakan adalah 20, 110, dan 200 Hz. Variasi temperatur udara yang digunakan berupa 10, 25, dan 40 °C. Variasi beban yang digunakan yaitu 1, 1,5, dan 2 A/cm².

Metode karakterisasi yang digunakan dalam percobaan ini yaitu karakterisasi secara elektrokimia berupa OCP, *potentiodynamic*, *chronopotentiometry* memberikan informasi yang berkaitan dengan kinerja *fuel cell*. Sedangkan EIS memberikan informasi yang berkaitan fenomena perpindahan

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

elektron, ion, dan molekul dari *fuel cell*. Gambar 2. merupakan skema rangkaian alat yang digunakan.



Gambar 2. Skema rangkaian alat

Pada penelitian ini ditempuh 15 tempuhan yang diperoleh dengan bantuan perangkat lunak Minitab 16.1. Tempuhan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Variasi percobaan

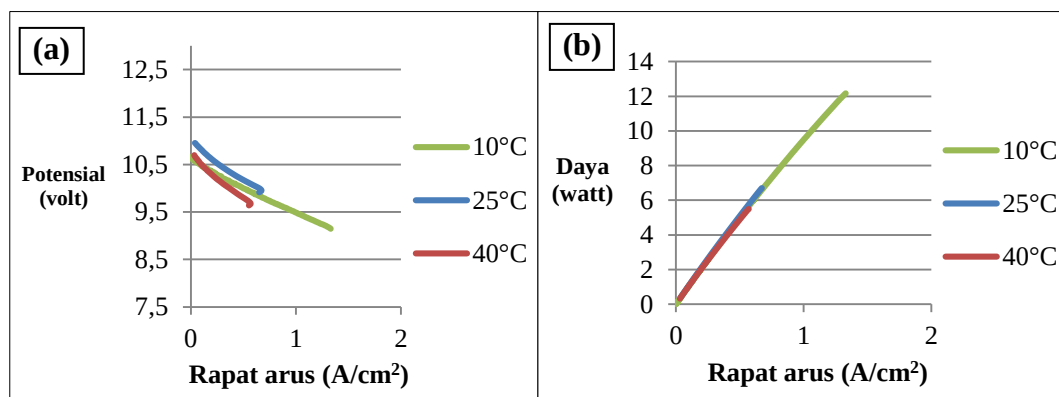
Tempuhan	Getaran (Hz)	Temperatur Udara (°C)	Beban arus (A)
1	20	10	1
2	200	10	1
3	20	40	1
4	200	40	1
5	20	10	2
6	200	10	2
7	20	40	2
8	200	40	2
9	20	25	1.5
10	200	25	1.5
11	110	10	1.5
12	110	40	1.5
13	110	25	1
14	110	25	2
15	110	25	1.5

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi stack PEMFC dilakukan sesuai dengan Tabel 1. Hasil karakterisasi dibagi menjadi tiga bagian, efek temperatur, efek getaran, dan efek beban konstan.

A. Efek temperatur terhadap kinerja PEMFC

Variasi temperatur yang dilakukan pada penelitian ini adalah 10 °C, 25 °C, dan 40 °C. Temperatur 25 °C merepresentasikan temperatur normal di Indonesia, sedangkan 40 °C merepresentasikan musim panas/kemarau di Indonesia. Kurva *potentiodynamic* dengan variasi suhu dapat dilihat pada Gambar 3.

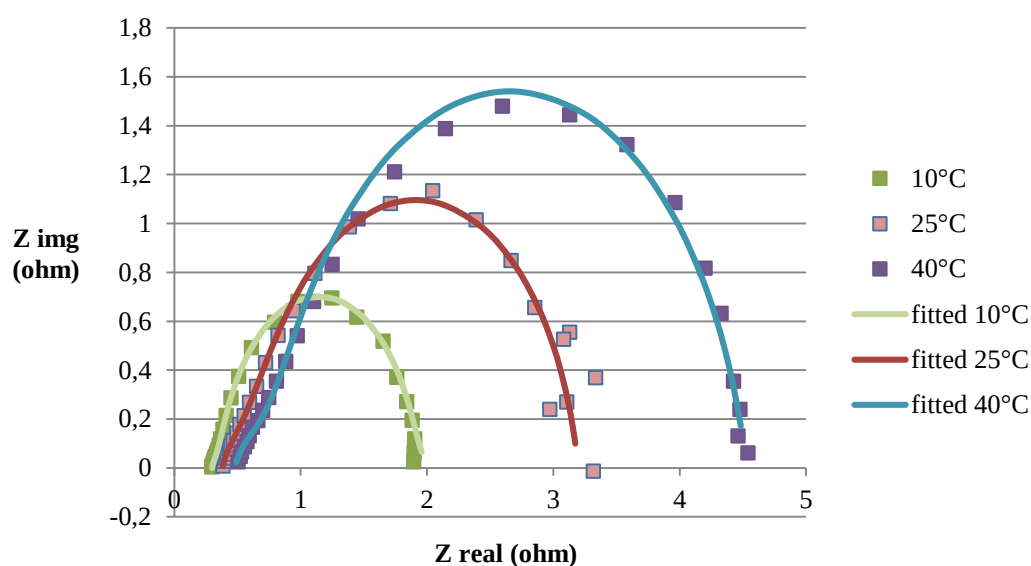


Gambar 3. Hubungan potensial-rapat arus (a), dan daya-rapat arus (b) PEMFC yang dioperasikan dengan getaran 110 Hz dan beban arus 1,5 A

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat kecenderungan garis yang menunjukkan daerah polarisasi tertentu, yaitu daerah polarisasi *ohmic* yang dimaknai sebagai kemampuan *stack* PEMFC mempertahankan potensialnya agar tidak turun secara drastis bila beroperasi pada arus yang lebih tinggi. Pada kondisi temperatur 40°C, diduga membran menjadi kering. Membran yang kering akan menurunkan PEMFC dapat dilihat juga kurva I-P yang disajikan pada Gambar 3.b untuk mengetahui daya yang dihasilkan oleh PEMFC, dengan puncak kurva tersebut merupakan daya maksimum yang dihasilkan. Daya maksimum yang dihasilkan pada variasi temperatur 10 °C, 25 °C, dan 40 °C adalah 12,2; 6,7; dan 5,5 watt. Daya maksimum PEMFC menurun seiring dengan kenaikan temperatur.

Pada temperatur 25 °C dan 40 °C, kenaikan getaran justru memperburuk kondisi *stack* PEMFC sehingga menurunkan daya yang dihasilkan konduktivitas

proton di membran (Sirliyani, 2015). Temperatur operasi untuk PEMFC berada pada rentang 60 °C – 80 °C, karena PEMFC mengalami reaksi elektrokimia yang bersifat eksotermik maka temperatur udara optimal berada pada temperatur 30 °C – 35°C. Temperatur udara di atas 35°C, diduga membuat membran MEA menjadi terlalu kering sehingga meningkatkan *ohmic losses* yang menurunkan kinerja PEMFC (Rosa *et al.*, 2007). Pengaruh variasi temperatur pada kinerja PEMFC juga dapat dilihat dari nilai impedansi untuk perpindahan muatan dan perpindahan massa, berupa Nyquist *plot* yang disajikan pada Gambar 4.



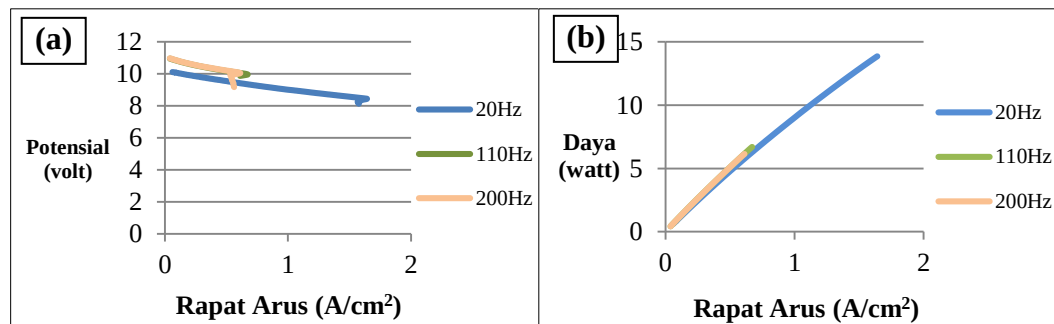
Gambar 4. Kurva Nyquist dari *stack* PEMFC, *fitted*, setelah dioperasikan dengan getaran 110 Hz dan beban arus 1,5 A

Setengah lingkaran pertama merepresentasikan impedansi perpindahan muatan pada PEMFC. Nilai impedansi perpindahan muatan pada temperatur 10 °C, 25 °C, dan 40 °C yaitu 0,38; 0,5; dan 0,66. Nilai impedansi perpindahan muatan terbesar didapat pada variasi temperatur 40 °C, karena pada temperatur tersebut membran menjadi relatif lebih kering sehingga konduktivitas proton terganggu dan perpindahan proton pun menjadi terganggu. Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa lebarnya kurva bertambah seiring dengan kenaikan temperatur. Kondisi membran relatif tidak kering pada temperatur 25 °C serta kandungan oksigen dalam udara cukup untuk berjalannya reaksi elektrokimia di dalam *stack* PEMFC. Sedangkan pada temperatur 40 °C, seperti telah dijelaskan

sebelumnya kenaikan temperatur ini mengakibatkan membran menjadi kering sehingga oksigen sulit untuk berdifusi. Kesulitan difusi ini dapat dilihat dengan nilai tahanan perpindahan massa pada temperatur 40 °C yaitu 3,511 ohm yang lebih besar jika dibandingkan dengan variasi temperatur lain.

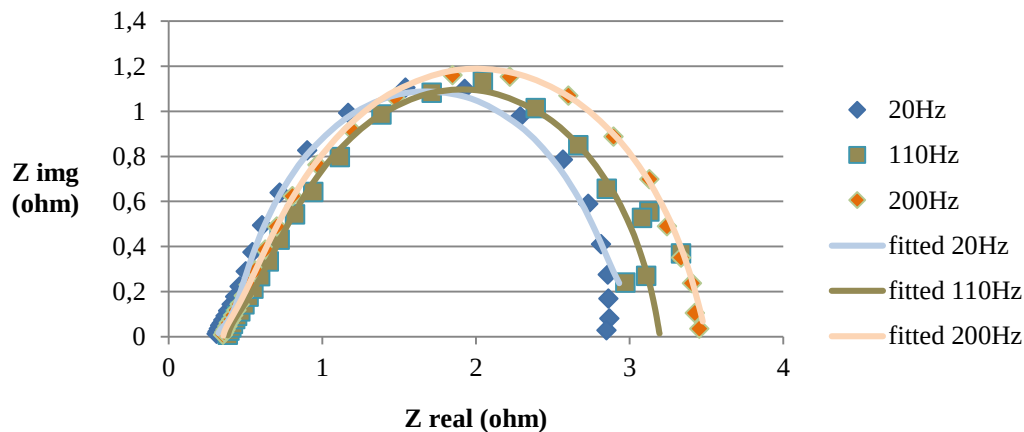
B. Efek getaran terhadap kinerja PEMFC

Getaran yang diujikan pada penelitian ini adalah 20 Hz, 110 Hz, dan 200 Hz. Getaran 20 Hz merepresentasikan saat kendaraan berada pada jalan normal, getaran 200 Hz merepresentasikan saat kendaraan melewati lubang cukup besar. Hasil *potentiodynamic* pada variasi getaran disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan potensial-rapat arus (a) dan daya-rapat arus (b) PEMFC setelah dioperasikan dengan temperatur 25 °C dan beban arus 1,5 A

Nilai tahanan polarisasi *ohmic* mengalami kenaikan seiring dengan kenaikan getaran. Hal ini dapat terjadi karena pada getaran 200 Hz, upaya *stack* PEMFC untuk mempertahankan dayanya tidak mencapai rapat arus yang cukup tinggi. Kenaikan getaran mengakibatkan menurunnya daya maksimum yang dihasilkan oleh PEMFC. Getaran yang cukup tinggi mengakibatkan reposisi proton pada gugus SO_3H sehingga membuat difusi proton H^+ melewati membran semakin sulit (Ahmed *et al.*, 2011). Selain itu, untuk melihat nilai impedansi perpindahan muatan dan perpindahan massa dapat dilihat Nyquist *plot* pada Gambar 6.

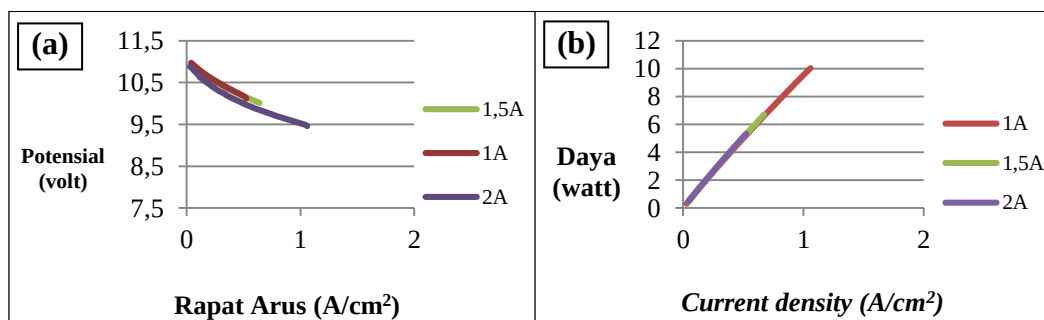


Gambar 6. Kurva Nyquist stack PEMFC, *fitted*, setelah dioperasikan dengan temperatur 25°C dan beban arus 1,5 A

Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa perbedaan lebar kurva dari ketiga variasi getaran tersebut tidak terlalu signifikan. Namun masih dapat dilihat bahwa dengan adanya kenaikan getaran maka lebar kurva bertambah. Adapun nilai impedansi perpindahan muatan pada variasi getaran 20 Hz, 110 Hz, dan 200 Hz yaitu 0,2 ohm, 0,5 ohm, dan 0,5 ohm. Nilai tahanan perpindahan muatan yang serupa didapatkan pada getaran 110 Hz dan 200 Hz, karena pada kedua getaran tersebut mulai terjadi reposisi proton pada gugus $-SO_3H$.

C. Efek beban konstan terhadap kinerja PEMFC

Beban arus yang diujikan pada penelitian ini adalah 1 A, 1,5 A, dan 2 A. Hasil *potentiodynamic* untuk variasi beban arus konstan disajikan pada Gambar 7.

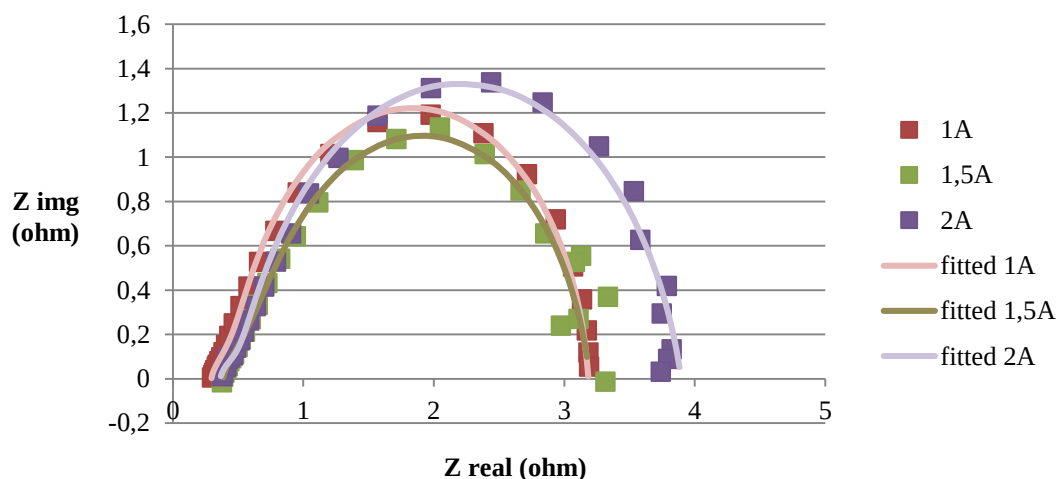


Gambar 7. Hubungan potensial-rapat arus (a) dan daya-rapat arus (b) PEMFC setelah dioperasikan dengan getaran 110 Hz dan temperatur 25°C

Tahanan polarisasi *ohmic* pada variasi beban konstan 1 A, 1,5 A dan 2 A yaitu 0,277; 0,28; dan 0,277. Nilai tahanan polarisasi *ohmic* ini serupa karena diduga *stack* PEMFC berupaya mempertahankan dayanya pada setiap variasi beban arus konstan.

Kurva respon daya terhadap arus untuk variasi beban konstan dapat dilihat pada Gambar 7(b) dengan puncak kurva merupakan daya maksimum. Daya maksimum yang dicapai pada variasi beban konstan 1 A, 1,5 A, dan 2 A telah disajikan yaitu 10 watt, 6,7 watt, dan 5,32 watt. Daya maksimum menurun seiring dengan kenaikan beban arus, hal ini terjadi karena meningkatnya beban arus mengakibatkan *stack* PEMFC semakin sulit untuk mempertahankan daya yang dihasilkannya.

Impedansi *stack* PEMFC diperoleh melalui EIS berupa kurva Nyquist yang telah dicocokkan dengan suatu model ekuivalen dengan *fuel cell*. Untuk variasi beban arus, Nyquist *plot* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kurva Nyquist *stack* PEMFC, *fitted*, setelah dioperasikan dengan getaran 110 Hz dan temperatur 25°C

Berdasarkan Gambar 8 dapat dilihat bahwa dengan adanya kenaikan beban arus maka lebar kurva pun bertambah. Hal ini dapat dijelaskan oleh impedansi perpindahan muatan dan impedansi perpindahan massa. Setengah lingkaran pertama yang merepresentasikan impedansi perpindahan muatan tidak terlalu terlihat di dalam kurva. Adapun nilai impedansi perpindahan muatan pada variasi

beban arus 1 A, 1,5 A, dan 2 A yaitu 0,3 ohm, 0,5 ohm, dan 0,3 ohm. Nilai impedansi perpindahan muatan pada beban arus 1,5 A lebih besar dari kedua variasi lainnya. Hal ini disebabkan oleh pada beban arus 1,5 A *stack* PEMFC tidak mampu mempertahankan dayanya sehingga nilai tahanannya menjadi besar.

Setengah lingkaran yang kedua merepresentasikan impedansi perpindahan massa. Nilai impedansi perpindahan massa pada beban arus 1 A, 1,5 A, dan 2 A telah disajikan pada Tabel IV.1 yaitu 2,607; 2,35; 3,327 ohm. Nilai tahanan terkecil justru didapat dari pembebanan arus 1,5 A, hal ini terjadi karena pada beban arus 1,5 A, *stack* PEMFC dipaksa memproduksi air dari hasil reaksi elektrokimia. Air ini kemudian berdifusi sehingga membuat membran PEMFC relatif lebih basah dan meningkatkan konduktivitas proton, yang mengakibatkan nilai impedansi menurun. Namun, pada saat pembebanan arus 2 A, *stack* PEMFC tidak mampu memproduksi air seiring dengan kenaikan arus, sehingga impedansinya pun meningkat.

4. KESIMPULAN

Kenaikan temperatur udara, getaran, dan beban arus menyebabkan menurunnya kinerja PEMFC dapat dilihat dengan menurunnya daya maksimum PEMFC, meningkatnya tahanan polarisasi *ohmic*, impedansi perpindahan muatan dan impedansi perpindahan massa. Menurut hasil analisis varian dari minitab, faktor yang paling mempengaruhi kinerja PEMFC adalah temperatur.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboratorium *Process Safety and Corrosion Control*, Departemen Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed HEU, Banan R, Zu JW, & Bazylak A. 2011. Free Vibration Analysis of A Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell, *Journal of Power Sources*. 196. 5520-5525.

- Belkhir Z, Zeroual M, Ben Moussa H, & Zitouni B. 2011. Effect of Temperature and Water Content on The Performance of PEMFC. *Revue des Energies Renouvelables*. 14. 121-130.
- Diloyan G, Sobel M, Das K, & Hutapea P. 2012. Effect of Mechanical Vibration on Platinum Particle Agglomeration and Growth in Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell Catalyst Layers. *Journal of Power Sources*. 214. 59-67.
- Kim S, & Hong I. 2008. Effect of Humidity and Temperature on A Proton Exchange Membrane Fuel Cell (PEMFC) Stack. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 14. 357-364.
- Rajalakshmi N, Pandian S, & Dhathathreyan KS. 2009. Vibration Tests on PEM Fuel Cell Stack Usable in Transportation Application. *International Journal of Hydrogen Energy*. 34. 3833-3837.
- Sammes N. 2006. Fuel Cell Technology Reaching Towards Commercialization. Springer, Colorado.
- Santa Rosa DT, Pinto DG, Silva VS, Silva RA, & Rangel CM. 2007. High Performance PEMFC Stack With Open-Cathode at Ambient Pressure and Temperature Conditions. *International Journal of Hydrogen Energy*. 32, 4350-4357.
- Sirliyani. 2015. Pengaruh Temperatur Hidrogen dan Beban Terhadap Kinerja *Proton Exchange Membrane Fuel Cell* (PEMFC) dengan Operasi Nyala Mati. [Tesis]. Departemen Teknik Kimia. Institut Teknologi Bandung.
- Williams MC. 2004. Fuel Cell Handbook, Seventh Edition. EG & G Technical Services, Inc., Morgantown.
- Yu Y, Li H, Wang H, Yuan XZ, Wang G, & Pan M. 2012. A Review on Performance Degradation of Proton Exchange Membrane Fuel Cells During Startup and Shutdown Processes: Causes, Consequences, and Mitigation Strategies, *Journal of Power Sources*, 205, 10–23.

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK
n-HEKSANA TANAMAN KERSEN (*Muntingia calabura*)
(Antioxidant and Toxicity Activity from *n*-Hexane Extract of Kersen Plant
(*Muntingia calabura*))**

Fitriyanti¹, Tarso Rudiana^{1,2}, Ambar lafah¹, Farhan Riza Afandi¹, Hana Nurbaiti¹, Indira Puspa Dewanti¹, Lien Sururoh¹, Titik Tiara¹, Widyaningsih¹

¹ Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

² Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Farmasi Universitas Mathla'ul Anwar
Pandeglang Banten.

e-mail/telp: vheveefitri@gmail.com/082216689508

ABSTRAK

Batang tanaman kersen *Muntingia calabura* pada penelitian ini diekstraksi dan difraksinasi untuk diuji aktivitas antioksidannya menggunakan uji DPPH bioautografi dan DPPH *free radical scavenging* dan uji toksisitas. Serbuk batang kersen diekstraksi dengan metanol dan kemudian difraksinasi cair-cair dengan *n*-heksana. Ekstrak metanol diuji kandungan fitokimianya dan aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil uji fitokimia, batang tanaman kersen mengandung flavonoid dan steroid yang cukup tinggi. Fraksi *n*-heksana menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ mencapai 8,76 ppm dan toksisitas yang rendah pada *Artemia salina leach* (LC₅₀ 46.778,98 ppm).

Kata kunci: *Muntingia calabura*, aktivitas antioksidan, aktivitas sitotoksik, DPPH, dan *Artemia salina leach*

ABSTRACT

The stem of *Muntingia calabura* in this study was extracted and fractionated to evaluate antioxidant activities using bioautography DPPH and free radical scavenging DPPH and toxicity analysis. The stem was extracted using methanol and fractionated with *n*-hexane. The antioxidant activity was determined using DPPH free radical scavenging and toxicity activity was tested against *Artemia salina leach*. Based on the result, methanol extract contained a high flavonoid and steroid content. The *n*-hexane fraction exhibited a high activity in scavenging free radical with IC₅₀ value reached to 8.76 ppm and a very low activity against *Artemia salina leach* with LC₅₀ was 46,778.98 ppm.

Key words: *Muntingia calabura*, antioxidant activity, toxicity activity, DPPH, and *Artemia salina leach*

1. PENDAHULUAN

Indonesia telah dikenal sebagai sumber keanekaragaman hayati yang mengandung beragam sumber substansi kimia dengan berbagai macam manfaat. Sebagian besar masyarakat telah memanfaatkan ekstrak tanaman sebagai bahan obat alami untuk berbagai macam jenis penyakit, contohnya antibakteri, antiinflamasi, antihelmitik, dan obat batuk (Nakamura *et al.*, 1999; Leal-Cardoso *et al.*, 1999; Holets *et al.*, 2002; Ramos *et al.*, 2009).

Senyawa bahan alam merupakan senyawa hasil isolasi dari tumbuhan, insektisida, organisme laut, dan mikroorganisme. Sebagian besar dari senyawa bahan alam, biasanya mempunyai struktur yang relatif kompleks, dan variasi struktur yang menarik. Kebanyakan dari senyawa tersebut berasal dari golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, sterol, dan kumarin yang memiliki aktivitas biologi dan berperan penting dalam dunia kesehatan (Okwu, 2001). Kimia bahan alam terlibat dalam penelitian dari berbagai fenomena biologi, seperti mekanisme obat untuk gametofita dan reseptor, metabolisme obat di dalam tubuh dan protein dan enzim kimia.

Tanaman *cherry* atau kersen dengan nama latin *Muntingia calabura L.* ini merupakan tanaman yang dapat tumbuh dan berbuah dengan cepat sepanjang tahun dengan bentuk buahnya yang kecil bulat. Pertumbuhan tanaman ini berkembang sangat pesat di Indonesia karena tanaman *cherry* atau kersen membutuhkan iklim tropis sehingga cocok ditanam di Indonesia. Buah kersen mengandung vitamin C, flavonoid, fenol, niasin, dan beta karoten yang tinggi dan dapat digunakan sebagai antioksidan yang dapat menghalangi atau mengurangi pembentukan radikal bebas akibat proses oksidasi (Figueiredo *et al.*, 2008).

Dengan mempertimbangkan penelitian bioaktivitas pada buah kersen, maka pada penelitian ini dipilih batang tanaman kersen untuk diuji keefektifannya sebagai antioksidan dalam mengurangi keberadaan radikal bebas serta menganalisis kandungan kimianya.

2. METODE PENELITIAN

A. Tanaman

Batang tanaman kersen *Muntingia calabura L* yang telah diidentifikasi di Herbarium Bogor.

B. Ekstraksi dan Isolasi

Batang tanaman yang telah kering dan halus, ditimbang sebanyak 100 gram. Setelah itu, dimaserasi dengan metanol sebanyak 1 liter selama 1 x 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring dan residu direndam kembali dengan metanol hingga pelarut yang digunakan tidak berwarna. Masing-masing cairan hasil penyaringan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak metanol hasil maserasi dilarutkan dengan 50 mL metanol : air (1:1). Ditambahkan 50 *n*-heksana kemudian dikocok sampai terbentuk 2 lapisan, dimasukkan hasil pengocokan ke dalam corong pisah dan ditampung fraksi *n*-heksana dalam botol. Dilanjutkan kembali proses fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana hingga dihasilkan lapisan *n*-heksana berwarna bening. Ekstrak metanol dilakukan proses skrining fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis dan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana : etil asetat (8:2) dalam kolom kromatografi.

C. Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Sebanyak 10 mL filtrat Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 mL tetes amonia. Fraksi kloroform diambil dan ditambahkan 0,5 HCl 2% ke dalam tabung tersebut. Setelah itu divortex dan dibagi ke dalam tiga tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff (positif alkaloid jika terdapat endapan jingga-merah). Tabung reaksi kedua ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer (positif alkaloid jika terdapat endapan putih-kuning). Tabung reaksi ketiga ditambahkan 5 yang tetes pereaksi Wagner (positif jika terbentuk endapan coklat).

Uji Flavanoid

Sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan sedikit serbuk Mg ke dalam tabung tersebut dan 10 tetes HCl pekat. Amati perubahan yang terjadi (positif flavonoid jika timbul busa dan berwarna bening-jingga).

Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 2 mL ekstrak simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 tetes reagen *Liebermann-Burchard* ke dalam tabung tersebut (positif triterpenoid jika terbentuk cincin kecokelatan, merah atau violet dan positif steroid jika berwarna hijau).

Uji Fenolik dan Hidrokuinon

Sebanyak 2 mL filtrat tanaman dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan NaOH 2 N ke dalam tabung tersebut dan dikocok (positif jika berwarna merah).

Uji Tanin dan Polifenol

Ekstrak metanol tanaman sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 tetes FeCl_3 1% ke dalam tabung tersebut dan dikocok (positif tanin jika berwarna hijau kehitaman dan polifenol jika berwarna kebiruan).

Uji Saponin

Sampel tanaman yang telah kering dan halus ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan aquades sebanyak 5 mL ke dalam tabung tersebut. Setelah itu dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit. Filtrat yang diperoleh disaring dan didiamkan sampai agak dingin. Setelah itu dikocok dengan kuat sampai timbul busa (positif Saponin jika busa tersebut stabil selama 10 menit).

D. Uji Antioksidan

Metode Bioautografi Menggunakan DPPH 0,05 %

Ekstrak sampel yang pekat ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) dan dielusi dengan eluen hingga eluen mencapai tanda batas. Kemudian plat KLT dikering-anginkan dan disemprot dengan pereaksi DPPH. Jika bercak noda menghasilkan warna kuning maka postif aktif sebagai antioksidan.

Metode DPPH *Free Radical Scavenging*

Sebanyak 25 mL sampel dilarutkan dengan 25 mL metanol (1000 ppm) sebagai larutan induk. Dari larutan induk 1000 ppm dibuat sampel dengan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 ppm yang masing-masing larutan direaksikan dengan DPPH *free radical scavenging*. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit dan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Uji Toksisitas

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL DMSO dan diencerkan dengan air laut pada labu ukur 100 mL. masukkan 500, 50 dan 5 μ L larutan sampel (konsentrasi 1000,100 dan 10 ppm) ke dalam botol vial. Tambahkan 5 mL air laut dan 10 ekor larva udang *A. salina* Leach. Larutan dibiarkan selama 24 jam di bawah cahaya lampu. Setelah 24 jam, larva udang yang mati dari masing-masing botol vial dihitung dan dicari nilai LC_{50} .

Mortalitas dihitung dengan cara, akumulasi mati dibagi jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikali 100%. Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumber x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan kematian 50% dan diperoleh melalui persamaan regresi linier $y = a + bx$.

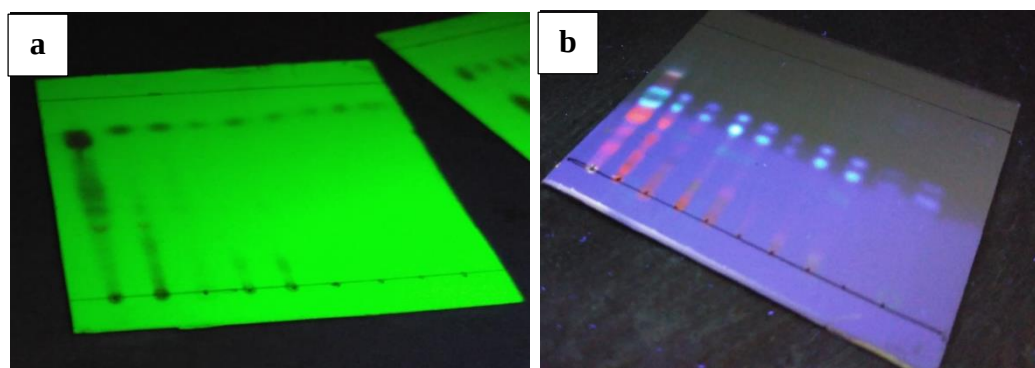
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kering daun *Muntingia calabura* L. sebanyak 100 gram diekstraksi dengan metanol menghasilkan 7,51 g ekstrak kental. Ekstrak kental ini selanjutnya dipartisi cair-cair menggunakan *n*-heksana dan diperoleh fraksi *n*-heksana yang

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

berwarna hijau tua seberat 2,1422 g. Ekstrak *n*-heksana batang kersen dimasukkan ke dalam kromatografi kolom menggunakan campuran eluen yaitu *n*-heksana : etil asetat (8:2) sebagai fase gerak dan fase diam berupa silika gel GF 60. Berdasarkan hasil kromatografi kolom dan lapis tipis diperoleh tiga jenis fraksi, F1, F2 dan F3. Berikut ini adalah hasil kromatografi kolom untuk fraksi *n*-heksana:



Gambar 1. Kromatografi lapis tipis fraksi *n*-heksana pada lampu UV a) 256 dan b) 354

Uji Fitokimia

Komponen yang terdapat pada ekstrak batang *cherry* atau kersen (*Muntingia calabura L.*) diidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dengan uji kualitatif. Uji fitokimia dilakukan dengan beberapa pereaksi khusus untuk golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tannin, dan saponin. Hasil uji fitokimia pada batang kersen atau *Muntingia calabura L.* disajikan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia batang kersen *Muntingia calabura L.*

Uji Fitokimia	Perubahan yang terjadi	Ket
Alkaloid	Tidak terjadi perubahan warna	-
Flavonoid	Terbentuk gas, larutan hijau kekuningan	+
Steroid dan Triterpen	Hijau	+
Fenolik	Hijau pudar	-
Tanin/polifenol	Hijau keruh	-
Saponin	Tidak terbentuk busa	-

Hasil uji fitokimia menunjukkan hasil positif mengandung senyawa golongan flavonoid dan steroid/triterpen. Uji flavonoid yang positif ditandai dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna jingga dan disertai timbulnya busa. Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat dinamakan uji *Wilstater*.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Magnesium dan asam klorida pekat bereaksi menimbulkan gelembung-gelembung dari gas H_2 . Logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna jingga (Mukhairini, 2012).

Uji steroid dilakukan dengan mengujikan sampel yang direaksikan reagen Liebermann-Burchard dengan hasil positif berwarna hijau. Reagen Liebermann-Burchard campuran antara anhidrida asetat dan H_2SO_4 . Perubahan warna tersebut dikarenakan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsipnya dalam mekanisme reaksi uji terpenoid adalah pelepasan H_2O dan penggabungan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik kemudian lepas, yang akhirnya terbentuk ikatan rangkap. Kemudian lepasnya gugus hidrogen beserta elektronnya, menyebabkan ikatan rangkap pindah. Terjadi resonansi pada senyawa tersebut yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas akibat senyawanya terjadi perpanjangan konjugasi yang munculnya cincin berwarna cokelat.

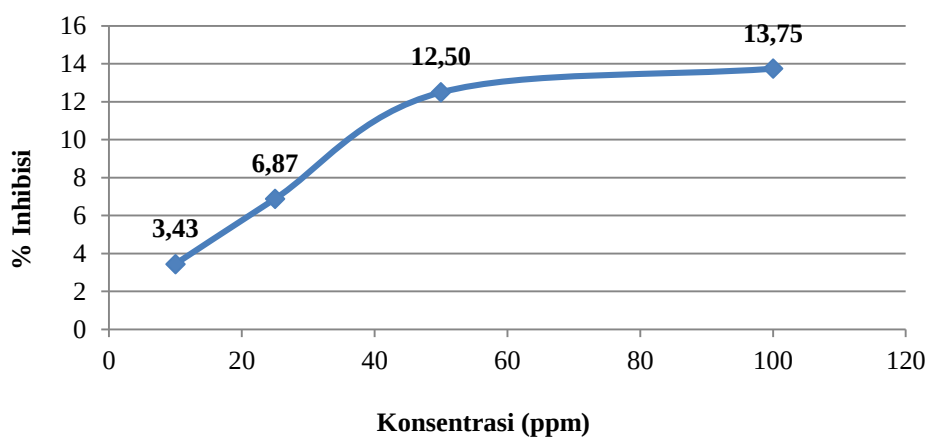
Uji Antioksidan

Ketiga fraksi selanjutnya diuji bioaktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH bioautografi yang dipaparkan pada Tabel 2. Seperti yang terlihat pada tabel dan plat KLT, fraksi 2 memberikan uji positif dengan DPPH yang ditandai terbentuknya noda kuning. Sementara fraksi 1 dan 3 tidak memberikan hasil positif. Hasil uji antioksidan tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif dalam fraksi 2. Yang mempunyai aktifitas antioksidan atau dapat menurunkan radikal bebas.

Tabel 2. Hasil uji antioksidan metode DPPH bioautografi

No	Fraksi	Hasil Reaksi	Ket
1	F1 (1-3)	Tidak menimbulkan warna	-
2	F2 (6-21)	Terbentuk noda kuning	+
3	F3 (24-44)	Tidak menimbulkan warna	-

Berdasarkan hasil uji antioksidan DPPH bioautografi, fraksi F2 kemudian dilakukan uji antioksidan menggunakan metode DPPH *free radical scavenging* untuk menentukan persentase inhibisi tersebut. Persentase inhibisi (%) digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dan menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas (Romansyah, 2011). Semakin besar nilai % inhibisi maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam sampel. Gambar 2 di bawah ini menunjukkan hasil uji antioksidan DPPH *free radical scavenging*.



Gambar 2. Grafik persentase (%) inhibisi DPPH *free radical scavenging*

Berdasarkan Gambar 2, nilai aktivitas tertinggi pada F2 yaitu pada konsentrasi 100 ppm dengan persentase inhibisi mencapai 13,75%. Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi dari larutan untuk menghambat aktivitas DPPH atau radikal sebesar 50% dan semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} pada F2 yaitu 8,76 ppm. Rendahnya nilai IC_{50} mengindikasikan bahwa fraksi F2 memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas hanya dengan konsentrasi yang kecil.

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

sel penting dalam tubuh. (Badarinath *et al.*, 2010). Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antoksidan. (Mandal *et al.*, 2009).

Uji Toksisitas

Nilai LC_{50} serta nilai probit pada sampel ditentukan pada pengujian toksisitas ekstrak *n*-heksana batang seri atau kersen. Nilai LC_{50} merupakan suatu nilai yang menyatakan sejumlah konsentrasi yang dapat membunuh larva *Artemia salina leach*. Berdasarkan hasil perhitungan Tabel 1 dan 2 diperoleh nilai LC_{50} ekstrak *n*-heksana batang seri atau kersen yaitu sebesar 46.778,98 ppm. Menurut Meyer (1982) menyatakan bahwa suatu sampel dinyatakan toksik apabila memiliki nilai LC_{50} di bawah 1000 ppm. Ekstrak *n*-heksana batang seri atau kersen memiliki nilai LC_{50} di atas 1000 ppm sehingga bersifat tidak toksik. Sedangkan analisis probit bertujuan untuk menentukan toksisitas relatif bahan kimia untuk organisme hidup dengan menguji respon berbagai organisme di bawah konsentrasi dari masing-masing bahan kimia (Windyasari *et al.*, 2015).

Tabel 3. Hasil pengamatan kematian udang *Artemia salina leach*

Konsentrasi	Kontrol		10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Udang Masuk	10	10	10	19	11	13	10	15
Total Masuk	20		29		24		25	
Rata-rata Masuk	10		14.5		12		12.5	
Udang Hidup	9	9	5	12	6	8	5	7
Total Hidup	18		17		14		12	
Rata-rata Hidup	9		8.5		7		6	
Udang Mati	1	1	5	7	5	5	5	8
Total Mati	2		12		10		13	
Rata-rata Mati	1		6		5		6.5	

Tabel 4. Hasil pengujian toksisitas

Konsentrasi [S]	Log [S]	Rata-rata kematian (100%)	Nilai Terkecil (Xt)	Nilai Terbesar (Xb)	Probit
0 ppm	0	10 %	3.659	3.718	3.78
10 ppm	1	41 %	4.747	4.773	4.8
100 ppm	2	42 %	4.773	4.798	4.82
1000 ppm	3	53 %	5.025	5.050	5.075

4. KESIMPULAN

Isolasi senyawa bahan alam dari batang tanaman kersen menggunakan metode maserasi dan partisi cair-cair menghasilkan tiga fraksi F1, F2, dan F3. Fraksi F2 memberikan aktivitas antiosidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ mencapai konsentrasi 8,76 ppm dan nilai LC₅₀ sebesar 46,77 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Figueiredo RA, Oliveira AA, Zacharias MA, Barbosa SM, Pereira FF, Cazels GN, Viana JP, & Camaro RA. 2008. Reproductive Ecology of The Exotic Tree *Muntingia calabura L.* in Southeastern Brazil. *J. R. Arove*. 32:993-999.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez G, Nakamura CV, & Diaz-Filho BP. 2002. Screening of Some Plants Used in The Brazillian Folk Medicine for The Treatment of Infectious Diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1027-1031.
- Leal-Cardoso JH, & Fonteles MC. 1999. Pharmacological Effects of Essential Oil of Plants of the Northeast of Brazil. *An Acad Bras Cienc*, 71: 207-213.
- Meyer HN. 1982. Brine Shrimp Letality Test: Med. Plant Research, Vol. 45. *Hipokrates Verlag GmbH, Amsterdam* :31-34.
- Mukhrani. 2012. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Makassar: UIN Alauddin Makassar.
- Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, Bando E, Melo FN, Cortez DG, & Dias-Filho BP. 1999. Antibacterial Activity of *Ocimum gratissimum L.* Essential Oil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 94: 675-678.
- Okwu DE. 2001. Evaluation of The Chemical Composition of Indigenous Spices and Flavouring Agents. *Journal of Global Pure Applied Science*, 7 (3): 455-459.
- Ramos SCS, Oliveira JCS, Camara CAG, Castelar I, Carvalho AFFU, & Lima-Filho JV. 2009. Antibacterial and Cytotoxic Properties of Some Plant Crude Extracts Used in Northeastern Folk Medicine. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 376-381.
- Rekha C, Poornima G, Manasa M, Abhipsa V, Devi JP, & Kekuda TRP. 2012. Ascorbic Acid, Total Phenol Content, and Antioxidant Activity of Fresh

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

- Juice of Four Ripe and Unripe Citruse Fruit. Research Article. *Chemical Science Transaction* 1 (2):303-310.
- Romansyah Y. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidasi Karang Lunak *Sarcophyton sp.* Alami dan Transplantasi di Perairan Pualu Pramuka, Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 (4) :127-133.
- Windyasari S, Ari, Faramayuda F, & Ratnasari D. 2015. Kajian Pendahuluan Antikanker dengan Uji Toksisitas metode BSLT terhadap Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi dari Kulit Batang Kemiri. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, Juni 2015, 3 (1) : 1-7.

DESAIN, OPTIMASI, DAN KLONING GEN *PRETROMBIN-2* SINTETIK UNTUK PRODUKSI TROMBIN SEBAGAI KOMPONEN LEM FIBRIN

*(Design, Optimization, and Cloning Of PRETOMBIN-2 for Production
Thrombin of Fibrin Glue Component)*

Saronom Silaban¹; Iman Permana Maksu²; Shabarni Gaffar²; Sutarya Enus³; Khomaini Hasan⁴; Toto Subroto² dan Soetijoso Soemitro²

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Medan, Medan

²Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran, Sumedang

³Pusat Mata Nasional, Rumah Sakit Mata Cicendo, Bandung

⁴Pusat Penelitian Pangan, Kesehatan dan Obat, Institut Teknologi Bandung, Bandung
Email/telp: saronomsilaban@unimed.ac.id/085317692813

ABSTRAK

Lem fibrin adalah biomaterial perekat yang dapat diaplikasikan untuk mengganti teknik jahitan pasca operasi. Biomaterial ini terdiri atas trombin, fibrinogen dan faktor XIII sebagai komponen utamanya. Dalam kajian ini, didesain dan dilakukan kloning gen pretrombin-2 (PT2) manusia sintetik sebagai prekursor trombin. Gen PT2 pada posisi C-terminal difusikan dengan suatu pengkode intein diikuti oleh gen domain pengikat kitin, yang bermanfaat dalam proses pemurnian. Kodon PT2 dirancang sesuai dengan preferensi kodon *Escherichia coli*. Gen PT2 dirancang menggunakan perangkat lunak *OPTIMIZER* dengan penambahan sisi restriksi *NdeI* pada ujung 5' dan *XhoI* pada ujung 3' nya. Gen PT2 sintetik yang terdapat pada pMAT, dipotong menggunakan enzim restriksi *NdeI* dan *XhoI*. Selanjutnya, PT2 diligasi ke vektor ekspresi pTWIN1, yang telah dipotong dengan menggunakan enzim restriksi yang sama, dengan katalis T4 DNA ligase. Keberhasilan kloning PT2 ke pTWIN1 diverifikasi dengan sequencing DNA. Hasil sequencing menunjukkan bahwa gen PT2 hasil rancangan berhasil dikloning ke dalam pTWIN1. Selanjutnya, gen PT2 hasil kloning ini dapat digunakan sebagai bahan awal untuk ekspresi PT2 dalam inang *E. coli*.

Kata kunci: lem fibrin, trombin, intein, ekspresi, *E. coli*

ABSTRACT

Fibrin glue is a biomaterial adhesive that can be applied as a substitute postoperative suture technique. These biomaterials consisting of thrombin, fibrinogen and factor XIII as main component. In this study, we designed and cloned genes prethrombin-2 (PT2) synthetic humans as a precursor of thrombin. PT2 gene at position C-terminal fused with a gene encoding the intein followed by a chitin-binding domain, which is useful in the purification process. Codon PT2 is designed according to the preference codons of *Escherichia coli*. PT2 gene was designed using the software *OPTIMIZER* with the addition of the *NdeI* restriction on the 5 'end and *XhoI* on the 3' end of her. PT2 synthetic gene contained in pMAT, cut using restriction enzymes *NdeI* and *XhoI*. Furthermore, PT2 pTWIN1 ligated into the expression vector, which has been cut using the same restriction

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

enzymes, the catalysts T4 DNA ligase. The success of cloning PT2 to pTWIN1 verified by DNA sequencing. Sequencing results showed that the gene was successfully cloned PT2 design results in pTWIN1. Furthermore, PT2 cloned gene can be used as starting materials for PT2 expression in E. coli host.

Key words: *fibrin glue, thrombin, intein, expression, E. coli*

1. PENDAHULUAN

Teknik jahitan merupakan standar emas untuk menutup luka pasca operasi infeksi (Enus *et al.*, 2011). Walaupun merupakan standar emas, teknik ini menimbulkan beberapa permasalahan: waktu pembedahan yang lebih panjang, ketidaknyamanan, penyembuhan luka berlangsung lama, trauma tambahan (pemasangan dan pencabutan benang), meningkatnya inflamasi, serta kemungkinan timbulnya komplikasi yang berhubungan dengan jahitan berupa infeksi (Uy *et al.*, 2005).

Lem fibrin (LF) memiliki kemampuan untuk merekatkan dan menutup luka, sehingga sangat berpotensi menggantikan teknik jahitan pasca operasi. LF sebagai bahan *bioadhesive*, tersusun atas fibrinogen, trombin, kalsium dan faktor XIII. Bahan ini dirancang untuk menyerupai tahap akhir koagulasi dengan membentuk bekuan fibrin. LF digunakan sebagai bahan hemostatis yang menghentikan pendarahan dari celah insisi, matriks untuk penyembuhan luka dan perekat jaringan (Spotnitz & Prabhu, 2005).

Meskipun luas penggunaannya, LF yang didapat secara komersial relatif mahal, sehingga tidak ekonomis. LF komersial ini mengandung protein plasma yang dimurnikan dari sumber darah lain. Namun, resiko kontaminasi patogen dari LF dapat terjadi secara bersamaan dengan perawatan. Untuk membuat LF diperlukan sumber bahan yang lebih berlimpah dan lebih aman. Saat ini, trombin pada LF komersial biasanya terbuat dari plasma beku segar sapi. Hanya saja, ketidaktersediaan produk ini di Indonesia, menyebabkan harus diimpor dengan harga yang sangat mahal. Permasalahan lain yang muncul adalah belum adanya izin khusus dari *Food and Drug Administration*, terkait transmisi penyakit karena terbuat dari plasma donor khusus untuk operasi mata (Enus *et al.*, 2010).

E-mail: *jurnal.itekima@stack.ac.id*

Penggunaan yang luas dari *E. coli* sebagai inang dalam produksi protein rekombinan disebabkan oleh karena sifatnya yang dapat tumbuh cepat dengan siklus hidup pendek, informasi dan karakter genom yang sudah lengkap sehingga mudah dimanipulasi, biaya produksi relatif murah, tingkat ekspresi protein target tinggi, cepat, dan teknologinya sudah mapan (Cabrita *et al.*, 2006). Namun, dibalik keuntungan yang disebutkan di atas, inang ini juga memiliki kelemahan, seperti fenomena bias kodon (Sorensen & Mortensen, 2005), dan potensi menghasilkan protein agregat kompleks tidak aktif yang lazim dikenal sebagai badan inklusi (Freydell *et al.*, 2007).

Strategi pertama yang perlu dilakukan untuk mengatasi kelemahan yang disebutkan di atas adalah dengan melakukan optimasi kodon gen target terhadap preferensi kodon inang. Strategi ini bertujuan untuk mengatasi rendahnya ekspresi protein dari gen target. Proses optimasi ini dilakukan dengan cara merubah kodon pengkode asam amino tertentu yang berasal dari sumber lain menjadi kodon dengan frekuensi tinggi di inang ekspresi (Gustafsson *et al.*, 2004). Strategi kedua adalah memanfaatkan teknologi gen sintetik berdasarkan kemampuan mengubah bias kodon dari gen target menjadi cocok dengan kodon preferensi inang rekombinan. Keuntungan lain dari teknologi ini adalah efektifitas dan efisiensi yang tinggi dibandingkan dengan proses isolasi sendiri, serta terhindar dari transmisi penyakit dan reaksi alergi (Hughes *et al.*, 2011).

2. BAHAN DAN METODE

Galur, vektor, bahan kimia, media

E. coli TOP10F' adalah galur inang untuk kloning dan peremajaan plasmid. pMAT merupakan vektor kloning komersial. Galur ditumbuhkan dalam media Luria Bertani (LB) dengan komposisi (tripton 1%, yeast extract 0,5%, dan natrium klorida 1%) yang disuplemen dengan antibiotik tetrasiklin (100 µg/mL), dan ampicilin (100 µg/mL). Untuk media padat, komponen media LB ditambahkan dengan 2% agar. Semua enzim restriksi dan T4-DNA ligase diperoleh secara komersial dari Fermentas (Canada). Vektor ekspresi pTWIN1 diperoleh secara

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

komersial dari New England Biolabs, NEB. Gen *PT2* sintetik (*PT2-intein MxeGyrA*) disintesis oleh GeneArt AG (Jerman).

Desain dan optimasi kodon gen PT2

Gen *PT2* sintetik dirancang berdasarkan urutan asam amino yang termuat dalam *GenBank* (*Accession number: NM_000506.3*). Kodon preferensi *E. coli* yang digunakan termuat dalam *Codon Usage Database* (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>). Optimasi kodon dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Optimizer* (<http://gnomes.urv.es/OPTIMIZER>) dan *Graphical Codon Usage Analyzer* (GCUA) (<http://gcua.schoedl.de/>).

Konstruksi fusi PT2 dan vektor pTWIN1

Ekspresi *PT2* dalam *E. coli* dan pemurniannya menggunakan sistem IMPACT-TWIN. Perancangan gen *PT2* sintetik ini dilengkapi dengan sisi restriksi *XhoI* dan *NdeI* pada intein terinduksi senyawa tiol. Untuk menggabungkan *PT2* sintetik dengan vektor ekspresi pTWIN1, maka pMAT-*PT2* terlebih dahulu dipotong menggunakan enzim restriksi *XhoI* dan *NdeI*. Secara paralel, dilakukan juga pemotongan pTWIN1 dengan enzim restriksi yang sama. Selanjutnya fragmen *PT2* disambungkan ke pTWIN1 menggunakan T4 DNA ligase hingga menghasilkan plasmid pTWIN1-*PT2*.

Transformasi pTWIN1-PT2 ke dalam sel kompeten E. coli TOP10F'

Transformasi pTWIN1-*PT2* ke sel kompeten *E. coli* TOP10F' dengan menggunakan metode kejutan panas (*heat shock*) (Sambrook *et al.*, 1989). Koloni transforman *E. coli* diseleksi melalui media agar yang mengandung antibiotik tetrasiklin dan ampicilin untuk transforman yang mengandung pTWIN1-*PT2*. Plasmid rekombinan, pTWIN1-*PT2* diisolasi dari koloni transforman *E. coli* TOP10F' menggunakan *QIAGEN Spin Plasmid Miniprep Test Kit* sesuai dengan protokol dari Qiagen. Plasmid rekombinan hasil pemurnian, dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa 1%. Selanjutnya plasmid tersebut digunakan untuk analisis restriksi dan ditentukan urutan nukleotidanya menggunakan metode

sekuensing DNA. Hasil sekuensing disejajarkan menggunakan *Seqman* pada program *Bioedit*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Desain dan optimasi kodon gen PT2 manusia

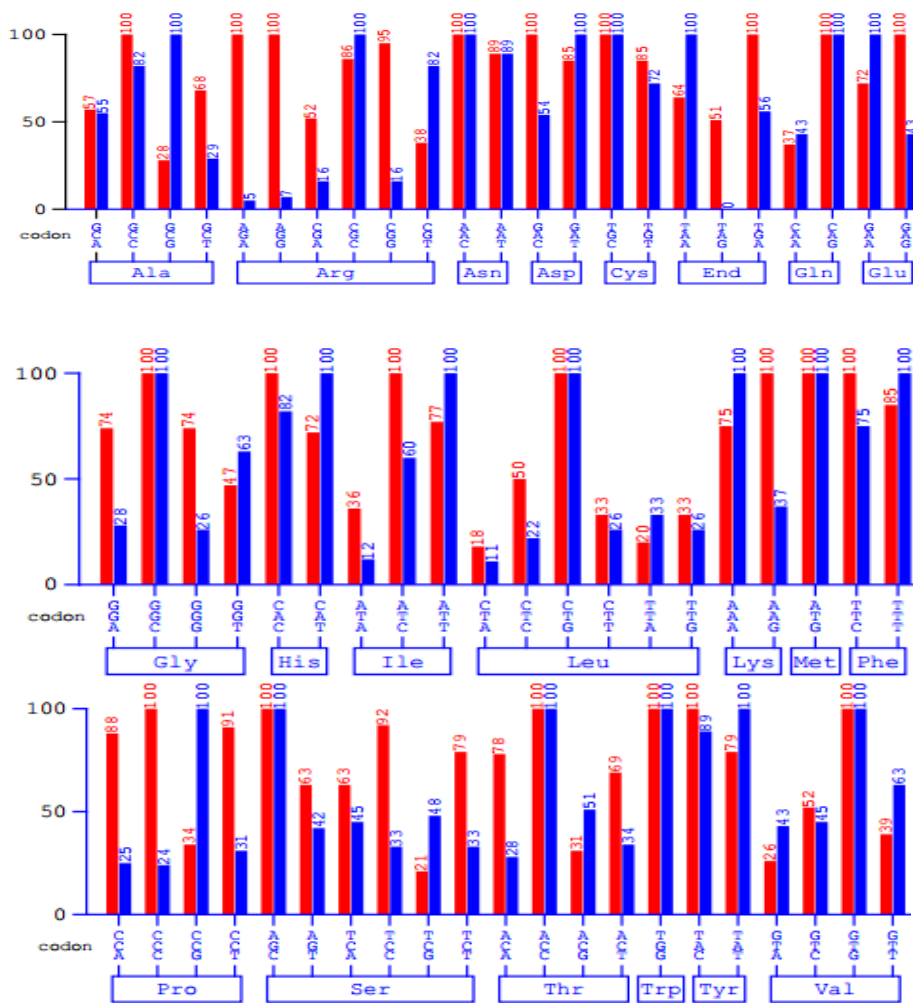
Perancangan gen PT2 manusia sintetik telah dilakukan melalui perangkat lunak. PT2 sintetik dirancang berdasarkan urutan asam amino yang termuat dalam GenBank dan penggunaan kodon preferensi *E. coli* yang termuat dalam Codon Usage Database. Urutan asam amino PT2 manusia terdapat dalam GenBank, dengan Accession number: NM_000506.3. Berdasarkan data GenBank, bahwa gen PT2 manusia terdiri dari 307 asam amino. Untuk memungkinkan proses ekspresi protein pada ujung 5' PT2 tersebut ditambahkan start codon ATG yang mengkode asam amino metionin.

Urutan nukleotida PT2 manusia yang diperoleh, berukuran 924 pasang basa dan selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak GCUA (www.gcu.org). Hasil analisis GCUA, terdapat sembilan jenis residu asam amino PT2 (149 asam amino keseluruhan) dikode oleh kodon yang tidak preferens bagi *E. coli* (kesesuaian relatif kurang dari 100%) (Tabel 1). Kodon-kodon PT2 manusia yang belum preferens, diubah dengan kodon *E. coli* K12 pengode asam amino yang sama dari data GCUA (Gambar 1). Tujuan pengubahan ini adalah agar diperoleh asam amino PT2 dengan kodon pengode yang preferens dengan *E. coli* (kesesuaian relatif 100%).

Tabel 1. Asam amino PT2 dan kodon pengodenya. (*): kodon pengode asam amino PT2 kesesuaian relatif <100%; (): kodon *E. coli* pengganti**

Asam amino PT2	Simbol	Jumlah	Pengode*	Pengganti**
Arginin	R	22	CGT	CGC
Asam aspartat	D	19	GAC	GAT
Valin	V	17	GTT	GTG
Histidin	H	5	CAC	CAT
Isoleusin	I	17	ATC	ATT
Serin	S	18	TCT	AGC
Fenilalanian	F	13	TTC	TTT
Glisin	G	26	GGT	GGC
Tirosin	Y	12	TAC	TAT
9 aa		149		

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id



Gambar 1. Kodon *E. coli* K12 dari data GCUA. Pasangan kodon warna merah adalah kodon manusia. Pasangan kodon warna biru adalah kodon *E. coli*

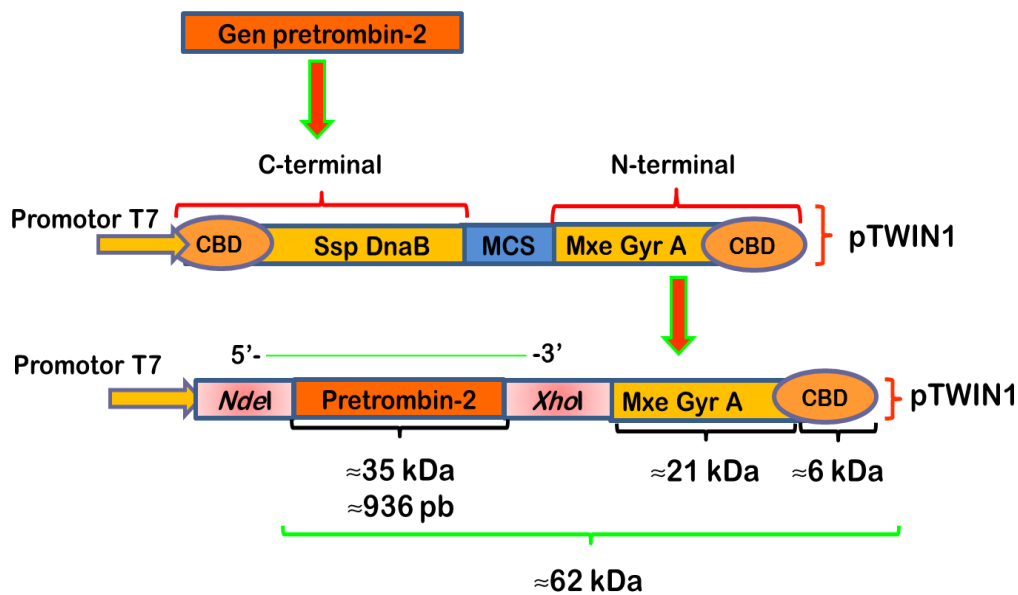
Penelitian ini menggunakan pretrombin-2 (PT2) manusia yang didapatkan dari *GeneBank* dengan nomor seri NM_000506.3 berupa urutan asam amino, sehingga perlu diubah ke dalam bentuk nukleotida. PT2 manusia tersebut terdiri dari 308 residu asam amino dan telah diubah ke dalam bentuk urutan nukleotida menggunakan perangkat lunak dalam jaringan *OPTIMIZER*. Mengingat inang yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroorganisme *E. coli*, artinya protein tertentu akan diekspresikan ke organisme lain (heterolog), sehingga memungkinkan terjadinya berbagai masalah pada ekspresi protein. Penelitian

sebelumnya melaporkan bahwa, gen-gen manusia yang banyak mengandung kodon jarang, tidak akan diekspresikan secara efisien, dan dapat menghambat laju translasi (Kane, 1995; Merkl, 2003; Gustafsson *et al.*, 2004; Welch *et al.*, 2004).

Hasil analisis *wild type* urutan nukleotida PT2 dengan GCUA (www.gcu.org) menunjukkan bahwa sembilan residu asam amino PT2 dikode oleh kodon-kodon yang tidak preferens dengan kodon inang (frekuensi rendah), sehingga kemungkinan tidak akan diekspresikan secara efisien. Optimasi kodon perlu dilakukan karena pada *wild type* nukleotida PT2 terdapat kodon yang tidak preferens dengan genom inang. Xiong *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa kodon yang jarang diekspresikan, dioptimasi sehingga kodon diekspresikan dengan frekuensi tinggi. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Wang *et al.*, (2010), dimana tingkat ekspresi protein yang mengandung kodon hasil optimasi, lebih tinggi daripada protein yang mengandung kodon tidak teroptimasi. Penelitian Zhou *et al.* (2004) membuktikan bahwa, hasil ekspresi protein malaria meningkat setidaknya tiga kali lipat dengan optimasi kodon.

Konstruksi plasmid rekombinan

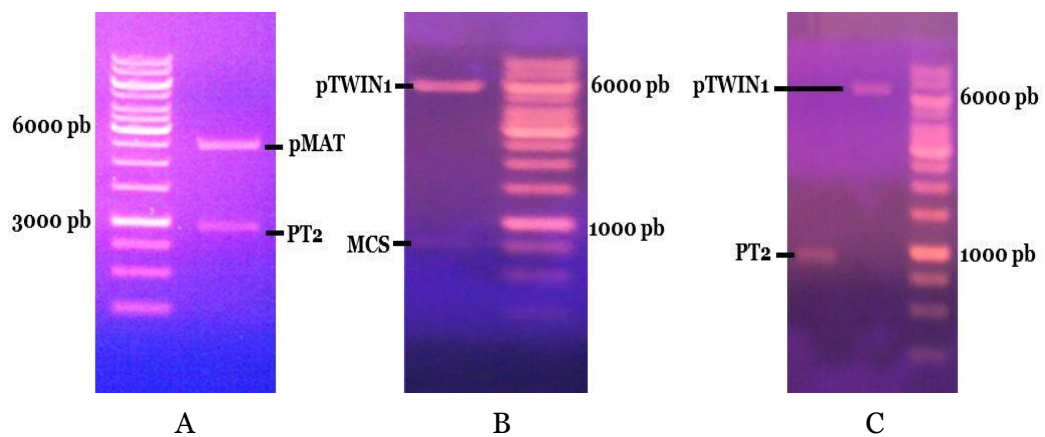
Konstruksi pTWIN1-PT2 terdapat pada Gambar 1. pTWIN1 memiliki gen pengode domain pengikat kitin yang dapat berikatan dengan kitin pada matriks pemurnian (Chong *et al.*, 1998). Dalam penelitian ini PT2 manusia dikonstruksi dalam bentuk fusi pada bagian N-terminal Sce intein-CBD (ujung-C PT2). Pada ujung keduanya disisipkan sisi pemotongan *NdeI* (CATATG) pada ujung 5' dan *XhoI* (CTCGAG) pada ujung 3' agar gen PT2 dapat digabung dengan pTWIN1. Penyisipan gen PT2 manusia sintetik pada pTWIN1 dilakukan pada bagian intein *Ssp DnaB*.



Gambar 2. Konstruksi pTWIN1-PT2 rekombin

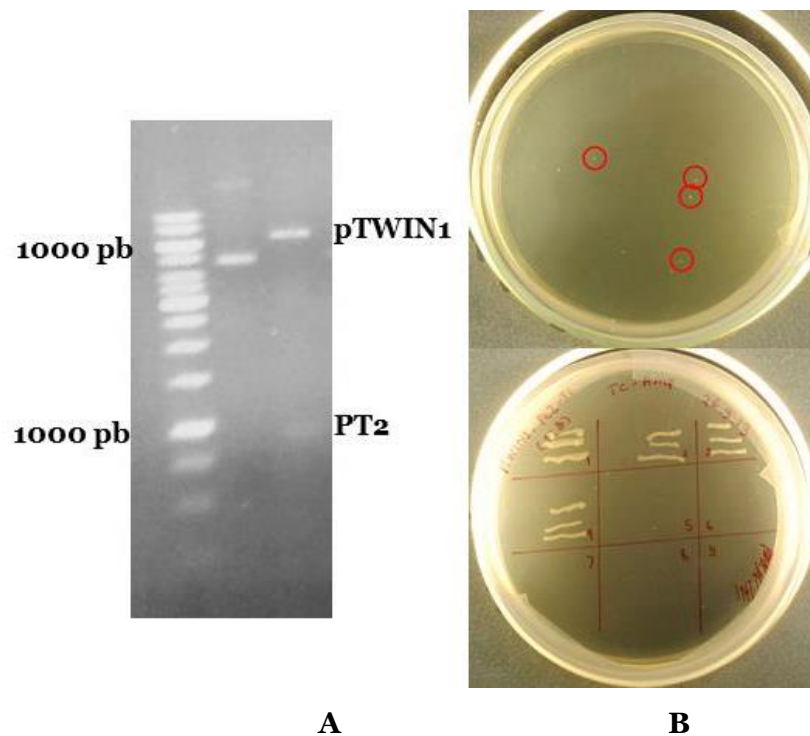
Konstruksi plasmid rekombinan dan transformasi inang *E. coli* TOP10F'

Untuk mengekspresikan PT2 pada inang ekspresi, PT2 sebagai DNA target terlebih dahulu dipotong dari plasmid pMAT dan kemudian diligasi dengan vektor ekspresi pTWIN1. Plasmid pMAT yang membawa PT2 berhasil dipotong dan diperoleh fragmen DNA PT2 yang siap diligasi dengan vektor ekspresi pTWIN1. Pemotongan pMAT_PT2 dengan enzim restriksi *XhoI* dan *BamHI* menghasilkan dua pita berukuran ~936 pb (PT2) dan ~2374 pb sebagai pMAT (Gambar 3A). Vektor ekspresi pTWIN1 juga dilinierkan, dan diperoleh dua pita berukuran ~6697 pb yang diduga pTWIN1 linier dan ~678 pb (*multiple cloning site*) (Gambar 3B). Pita DNA PT2 dan pTWIN1 yang telah linier berhasil dimurnikan dari gel agarosa (Gambar 3C).



Gambar 3. Karakterisasi restriksi dan pemurnian. A: Plasmid pMAT_PT2/*XhoI*/*Bam*HI; B: Vektor pTWIN1/*XhoI*/*Bam*HI; C. Karakterisasi pemurnian DNA PT2 dan pTWIN1 dari gel agarosa

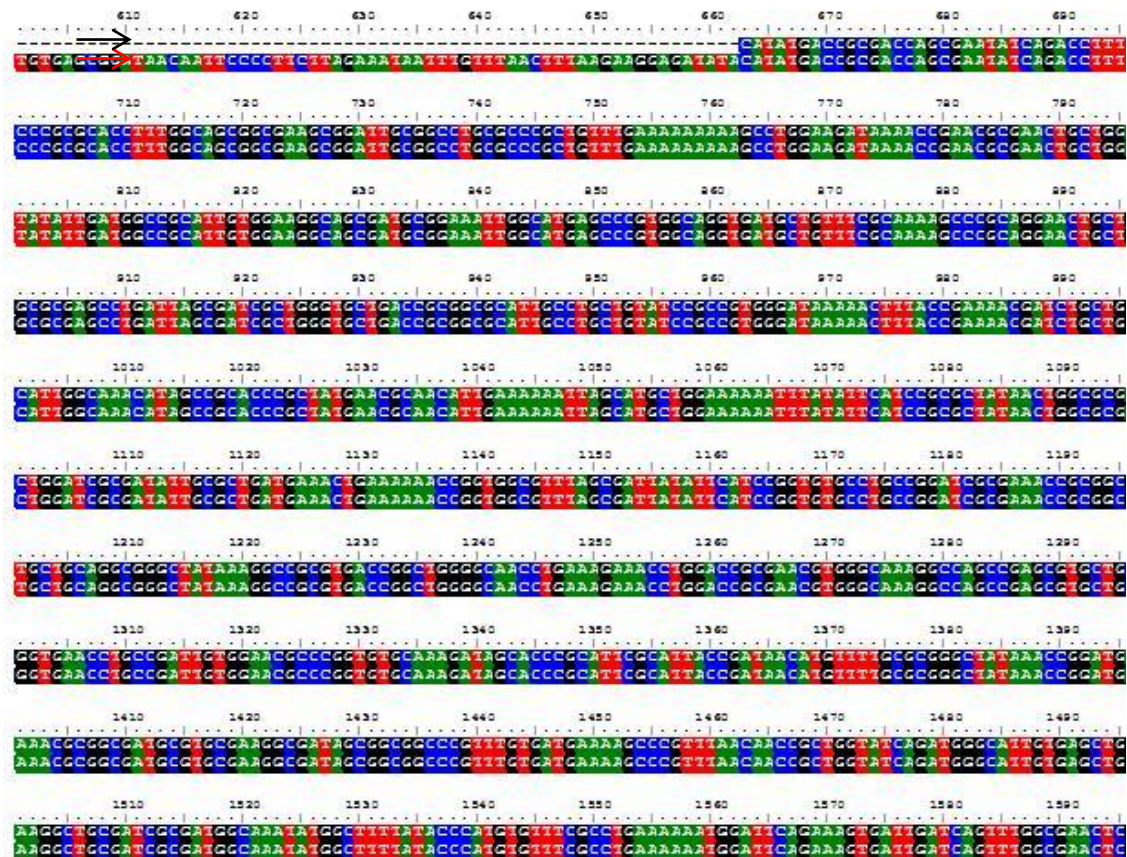
DNA PT2 berhasil terligasi dengan vektor pTWIN1. PT2 disisipkan dalam pTWIN1 di situs kloning (MCS) di antara situs pemotongan *XhoI* dan *Bam*HI, sehingga dihasilkan plasmid pTWIN1 yang membawa sisipan DNA PT2 (pTWIN1-PT2). Sel kompeten *E. coli* TOP10F' berhasil ditransformasikan menggunakan plasmid pTWIN1-PT2. Sifat resisten tetrasiklin pada *E. coli* TOP10F' dan sifat resisten ampisilin yang dibawa vektor pTWIN1 digunakan untuk seleksi transforman. Transformasi *E. coli* TOP10F' menggunakan plasmid pTWIN1-PT2 menghasilkan 4 koloni tunggal (Gambar 4B). Dua koloni tunggal transforman *E. coli* TOP10F' dipilih untuk dikarakterisasi dengan enzim *XhoI* dan *NdeI*. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa, satu koloni transforman mengandung plasmid rekombinan yang benar (Gambar 4A, lajur 1 dan 2), selanjutnya diberi nama P1 dan plasmid rekombinan hasil isolasi dari P1 dinamakan pP1. Plasmid adalah molekul DNA yang membawa gen asing (PT2) yang apabila ditransformasikan ke dalam sel inang dapat bereplikasi (Campbell *et al.*, 2002).



Gambar 4. Karakterisasi transforman. A: Plasmid pTWIN1-PT2 rekombinan isolasi dari *E. coli* TOP10F'. B: Koloni transforman dan replika

Karakterisasi hasil kloning dengan DNA sequencing

Untuk mengkonfirmasi keberhasilan ligasi, dan memastikan kesesuaian urutan nukleotida gen PT2 hasil ligasi dengan hasil rancangan optimasi, sebanyak 10 μ L plasmid pTWIN1-PT2 dengan konsentrasi 100 ng/ μ L ditentukan urutan nukleotidanya dengan DNA sequencer oleh MacroGene (Korea). Perbandingan urutan nukleotida PT2 hasil optimasi dengan PT2 hasil kloning disajikan dalam Gambar 5.



Gambar 5. Perbandingan urutan DNA gen PT2 hasil rancangan (panah hitam) dengan gen PT2 hasil kloning

Hasil analisis penjajaran urutan nukleotida menggunakan *seqman* pada program *Bioedit* menunjukkan bahwa gen PT2 telah berhasil terligasi ke dalam vektor pTWIN1. Hasil analisis ini juga menunjukkan bahwa urutan gen PT2 hasil kloning sesuai dengan urutan PT2 hasil rancangan optimasi.

4. KESIMPULAN

Optimasi kodon gen target sesuai kodon preferensi inang dapat meminimalkan efek bias kodon yang selanjutnya berpengaruh pada ekspresi protein. Penggunaan gen sintetik lebih efisien dan efektif dibanding proses isolasi dari sumber alami. Prospek: Hasil kloning PT2 manusia sintetik ini, akan diproduksi dalam sistem ekspresi *E. coli* sebagai salah satu komponen lem fibrin pengganti teknik jahitan pasca operasi.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

- Cabrita LD, Weiwen D, & Stephen PB. 2006. A Family of *E. Coli* Expression Vectors for Laboratory Scale and High Throughput Soluble Protein Production. *BMC Biotechnol*, 6:12.
- Campbell NA, Reece JB, & Mitchell LG. 2002. Biologi. Diterjemahkan oleh Lestari, R. dkk. Erlangga. Jakarta.
- Chong S, Montello GE, Zhang A, Cantor EJ, Liao W, Xu MQ, & Benner J. 1998. Utilizing The C-Terminal Cleavage Activity of a Protein Splicing Element to Purify Recombinant Proteins in a Single Chromatographic Step. *Nucleic Acids Research*, 26: 5109-5115.
- Enus S, Dalimonthe NZ, Kartiwa A, & Putri NLHE. 2010. Perbandingan Efektivitas Cangkok Konjungtiva Bulbi antara Teknik Lem Fibrin Otologus dan Teknik Jahitan pada Bedah Eksisi Penderita Pterigium. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Enus S, Natadisastra G, Shahib MN, & Sulaeman R. 2011. Peran Lem Fibrin Otologus pada Penempelan Tandur Konjungtiva Bulbi Mata Kelinci Terhadap Ekspresi Gen Fibronectin dan Integrin. *MKB*, 43:183-188.
- Freydell EJ, Ottens M, Eppink M, Van Dedam G, & Van Der Wielen L. 2007. Efficient Solubilization of Inclusion Bodies. *Biotechnol J*, 2:678-684.
- Gustafsson C, Govindrajan S, & Minshull J. 2004. Codon Bias and Heterologous Protein Expression. *Trends in Biotechnol*, 22:346-353.
- Hughes RA, Miklos AE, & Ellington AD. 2011. Gene Synthesis: Methods and Applications. *Methods in Enzimology*, 498: 277-309.
- Kane JF. 1995. Effects of Rare Codon Clusters on High-Level Expression of Heterologous Proteins in *Escherichia coli*. *Curr. Opin Biotechnol*, 6:494-500.
- Merkel R. 2003. A Survey of Codon and Amino Acid Frequency Bias in Microbial Genomes Focusing on Translational Efficiency. *J. Mol. Evol*, 57:453-466.

- Sambrook J, Fritsch EF, & Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New York.
- Sorensen SP, & Mortensen KK. 2005. Advanced Genetic Strategies for Recombinant Protein Expression in *Escherichia coli*. *J Biotechnol*, 115:113-128.
- Spotnitz WD, & Prabhu R. 2005. Fibrin Sealant Tissue Adhesive-Review and Update. *J Long Term Eff Med* 15: 245.
- Uy HS, Reyes JM, Flores JD, & Siong RLB. 2005. Comparison of Fibrin Glue and Sutures for Attaching Conjunctival Autografts After Pterygium Excision. *Ophthalmology*, 112:667-671.
- Wang X, Li X, Zhang Z, Shen X, & Zhong F. 2010. Codon Optimization Enhances Secretory Expression of *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A in *E. coli*. *Protein Expression and Purification*, 72:101-106.
- Welch M, Villalobos A, Gustafsson C, & Minshull J. 2004. You're One in a Googol: Optimizing Genes for Protein Expression. *J.R.Soc.Interface*, 6:S467-S476.

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI *EDIBLE FILM* DARI
CAMPURAN TEPUNG GLUKOMANAN ILES-ILES KUNING
(*Amorphophallus onchophyllus*)
(*Synthesis and Characterization of Edible Film from Mixture of Glucomannan
Flour Yellow Iles-Iles (*Amorphophallus onchophyllus*)*)**

Adi Mulyadi¹, Adi Santoso^{1,2} & Agus Malik Ibrahim¹

¹Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon-Banten

²Puslitbang Hasil Hutan-Bogor

E-mail/telp: vising_adi@yahoo.co.id/085213490391

ABSTRAK

Tanaman iles-iles (*Amorphophallus onchophyllus*) dikenal dengan beberapa nama, antara lain ileus (Sunda) dan porang. Iles-iles dapat diolah menjadi bentuk lain berupa tepung glukomanan, dan dapat dijadikan sebagai bahan pembuat *edible film* yang berguna untuk industri pangan. Penelitian ini bertujuan mensintesis *edible film* dengan pemilihan konsentrasi etanol pada isolasi glukomanan dan pemilihan konsentrasi CMC untuk mendapatkan *edible film* dengan kualitas ketahanan terbaik. Glukomanan diekstrak dari tanaman iles-iles dengan metode maserasi. *Edible film* dihasilkan dari pencampuran antara tepung glukomanan hasil ekstraksi, *carboxy methyl cellulose* (CMC) dan *beeswax*. Variasi konsentrasi pelarut (etanol) pada proses isolasi glukomanan dan variasi konsentrasi CMC pada proses pembuatan *edible film* berpengaruh terhadap parameter kekuatan tarik *edible film* pada taraf signifikansi 99%, namun untuk interaksi antara kedua faktor tersebut tidak berbeda nyata. Kekuatan tarik *edible film* tertinggi yaitu 3,13 kgF/50 mm didapat dari kombinasi perlakuan konsentrasi etanol 60% dengan konsentrasi CMC 4%.

Kata kunci: iles-iles, glukomanan, etanol, *carboxy methyl cellulose*, *edible film*

ABSTRACT

Iles-iles (Amorphophallus onchophyllus) is known by several names, among others, ileus (Sunda) and porang. Iles-iles can be processed into other forms such as glucomannan flour, and can be used as an ingredient in edible film which is useful for the food industry. This study aims to synthesize edible film with the election of ethanol concentration on the isolation and selection of the concentration of glucomannan CMC to obtain edible film with the quality of the best endurance. Glucomannan extracted from iles-iles by maceration method. Edible films resulting from the mixing of the glucomannan flour extraction, carboxy methyl cellulose (CMC), beeswax, and glycerol. Variations in the concentration of solvent (ethanol) in the glocomannan isolation process and CMC concentration variation in the manufacturing process of edible film influence the

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

edible film's tensile strength at a significance level of 99%, but for the interaction between the two factors were not significantly different. The highest edible film's tensile strength that is 3.13 kgF/50 mm obtained from a combination of 60% ethanol concentration with 4% concentration of CMC.

Key words: *iles-iles, glucomannan, ethanol, carboxy methyl cellulose, edible film*

1. PENDAHULUAN

Iles-iles merupakan jenis talas-talasan yang tumbuh liar hampir di seluruh hutan Indonesia. Menurut Kurniawan *et al.* (2011), pusat produksi utama iles-iles adalah di Pulau Jawa, terutama Jawa Timur. Umbi iles-iles tidak dapat dikonsumsi langsung karena memiliki kandungan kristal kalsium oksalat berkisar 0,15% - 0,23% yang dapat menyebabkan rasa gatal. Oleh karena itu, pada tingkat petani umbi iles-iles sering dijadikan chips kering untuk memasok industri tepung iles-iles atau tepung glukomanan. Tepung glukomanan banyak digunakan dalam bidang industri, yaitu sebagai bahan baku kertas, tekstil, perekat, cat, bahan negatif film, komestik juga pembersih (Arifin, 2001). *Edible film* adalah salah satu alternatif bahan pengemas yang ramah lingkungan untuk produk-produk seperti bumbu serbuk, produk konfeksionari, dan produk-produk kering lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan data ketahanan dan ketebalan dari edible film dengan penambahan konsentrasi *carboxy methyl cellulose* (CMC) dan etanol pada pengaruh pemurnian tepung glukomanan terhadap kualitas ketahanan dan ketebalan *edible film*.

2. BAHAN DAN METODE

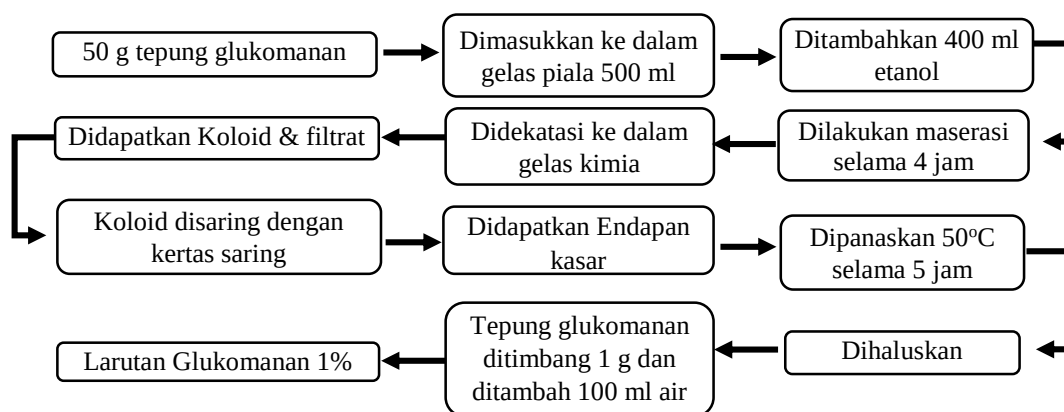
Bahan dan alat

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah tepung *Amorphophallus onchophyllus*, etanol 40% (v/v), 60% (v/v), dan 80% (v/v), akuades, glukomanan murni 100% (b/b), *carboxy methyl cellulose* (CMC), *beeswax* (lilin lebah), *plasticizer* (gliserol). Alat yang digunakan untuk isolasi glukomanan gelas piala, kompor listrik, pengaduk magnetik, kain saring, neraca analitik, oven, lempengan kaca, alumunium foil, cawan alumunium, instrumen FTIR, *thickness gauge*, *tensile tester*.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Isolasi glukomanan dengan metode maserasi

Isolasi glukomanan dari tepung iles-iles dilakukan untuk mendapatkan tepung glukomanan yang digunakan sebagai bahan baku sintesis *edible film*. Metode isolasi glukomanan merupakan modifikasi dari metode yang dilakukan oleh Widjanarko *et al.* (2011), dengan menggunakan larutan etanol pada konsentrasi berbeda yaitu; 40% (v/v), 60% (v/v), dan 80% (v/v). Ditimbang 50 g tepung glukomanan kasar kemudian dimasukkan dalam gelas kimia 500 ml lalu ditambahkan etanol 400 ml, kemudian dimaserasi selama 4 jam sambil diaduk dengan pengaduk magnetik, setelah selesai kemudian didekantasi ke dalam gelas kimia bertujuan untuk memisahkan endapan kasar tepung glukomanan dengan glukomanan yang larut dengan etanol 40%, setelah itu koloid atau glukomanan yang larut dengan etanol disaring dengan kertas saring, endapan yang terdapat di dalam kertas saring kemudian dipanaskan dalam oven dengan suhu 50 °C selama 5 jam sampai etanol yang terdapat di kertas saring menguap, yang tersisa glukomana murni yang ada di dalam kertas saring, setelah selesai pengovenan koloid atau glukomanan murni tadi dihaluskan menggunakan alu dan mortar agar tepung tersebut mudah larut dengan air.



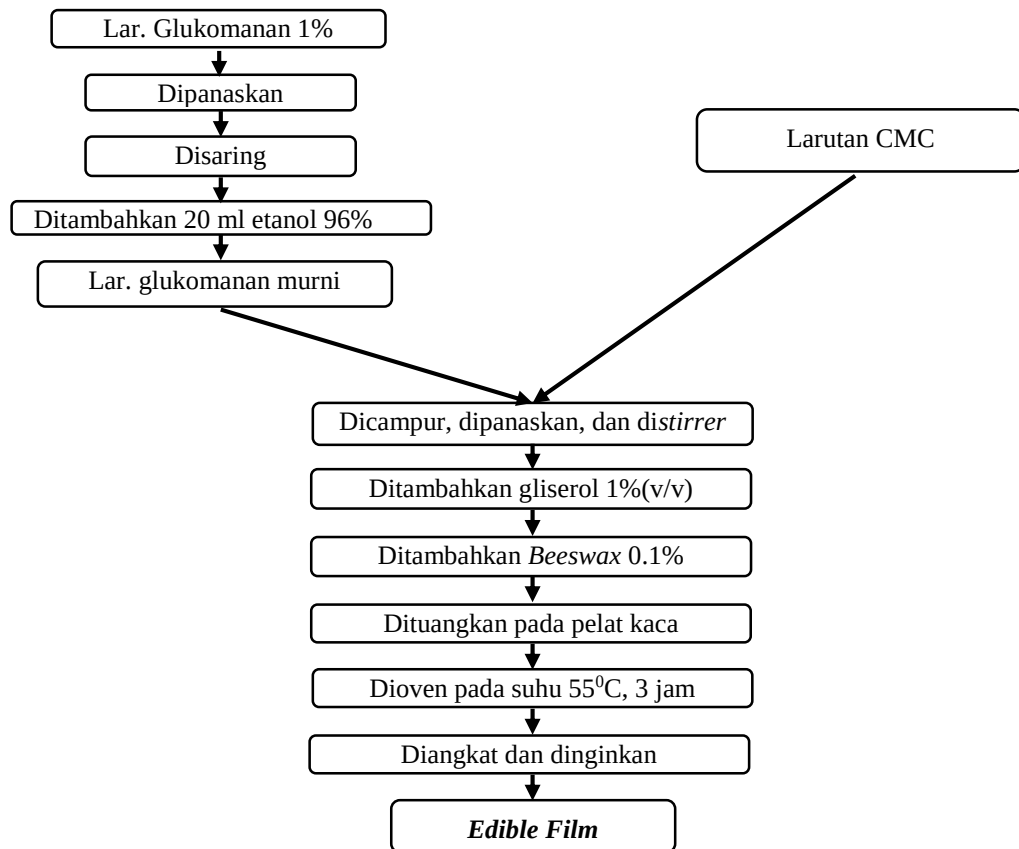
Gambar 1. Diagram alir isolasi glukomanan dengan etanol

Pembuatan *edible film*

Proses pembuatan *edible film* ini dilakukan dengan cara mencampurkan ekstrak glukomanan murni hasil isolasi dengan konsentrasi etanol 40% (v/v), 60% (v/v), dan 80% (v/v) dengan CMC 2% (b/v), 3% (b/v), dan 4% (b/v) sambil

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

dipanaskan dan diaduk dengan pengaduk magnetik, kemudian ditambahkan dengan gliserol 1% (v/v) dan *beeswax* 0.1% (b/v).



Gambar 2. Diagram alir pembuatan *edible film*

Pembuatan larutan CMC 2% (b/v), 3% (b/v), dan 4% (b/v)

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi CMC untuk sintesis *edible film*. Ditimbang CMC 2 g kemudian ditambahkan aquades 100 ml, CMC yang ditambahkan air akan mengental seperti gel, kemudian ditambahkan etanol 40 ml dengan konsentrasi 96% bertujuan untuk mengencerkan kekentalan CMC, setelah ditambahkan etanol CMC *distirrer* sambil dipanaskan bertujuan untuk menguapkan etanol yang sudah dicampur dengan CMC tadi, kemudian ditambahkan lagi aquades 20 ml, bertujuan agar pada saat proses pencampuran dengan larutan glukomanan 1% (b/v) tersebut tidak membentuk gel. Pembuatan

larutan CMC 3% dan 4% (b/v) sama perlakuannya dengan pembuatan CMC 2% (b/v).

Pengukuran ketebalan film (*thickness*)

Edible film diukur ketebalannya menggunakan alat *thickness gauge* dengan lima kali ulangan. Hasil pengukuran yang didapat diolah menggunakan metode statistik rancangan faktorial dengan dua faktor.

Pengujian kekuatan tarik (*tensile strength*)

Kuat tarik diukur dengan menggunakan *tensile strength*. Sebelum pengukuran dilakukan, sampel dikondisikan di dalam ruangan yang memiliki suhu 25 °C. Kuat tarik ditentukan berdasarkan berat beban maksimum pada saat film pecah.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan faktorial dua faktor (A x B) dengan masing-masing tiga taraf faktor. Faktor A adalah konsentrasi pelarut etanol yang digunakan dalam proses isolasi glukomanan (40%, 60%, dan 80%). Faktor B adalah konsentrasi larutan CMC yang digunakan dalam proses sintesis *edible film* (2%, 3%, dan 4%).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Edible film berperan sebagai lapisan tipis yang dapat didegradasi oleh bakteri dan terbuat dari sumber daya yang dapat diperbarui. *Edible film* disintesis dari glukomanan hasil isolasi dari tepung iles-iles kuning (*Amorphophallus oncophyllus*). Isolasi glukomanan menggunakan metode maserasi dengan konsentrasi etanol yang bervariasi yaitu 40%, 60% dan 80%.

Pencirian *edible film* menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Analisis ini dilakukan untuk mengidentifikasi vibrasi molekul dari *edible film* yang mengandung senyawa organik. Terdapat ikatan C-H, O-H, dan N-H pada daerah serapan antara 3500 cm⁻¹ – 3000 cm⁻¹ pada *edible film* dengan konsentrasi etanol 40% dan konsentrasi CMC 2%. Daerah spektrum inframerah

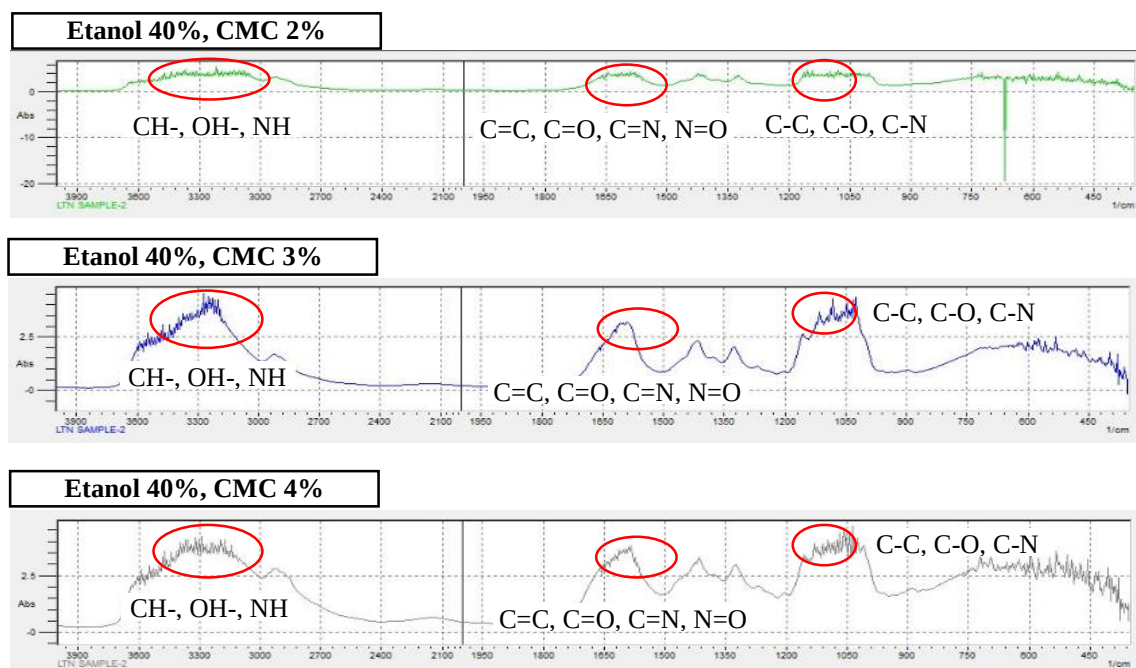
E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

ini yang merupakan daerah khusus berguna untuk identifikasi gugus fungsional dan menunjukkan dua bagian spektrum dari suatu alkohol. Untuk daerah serapan antara 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} terdapat tipe ikatan rangkap dua C=C, C=O, C=N, dan N=O, dan untuk daerah serapan antara 1200 cm^{-1} - 1050 cm^{-1} terdapat tipe ikatan C-C, C-O, dan C-N.

Tabel 1. Hasil analisis FTIR pada *edible film* dengan konsentrasi etanol 40%

Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
	CMC 2%	CMC 3%	CMC 4%
C-H			
O-H	3500 – 3000	3500 – 3000	3500 – 3000
N-H			
C=C			
C=O	1650 – 1500	1650 – 1500	1650 – 1500
C=N			
N=O			
C-C			
C-O	1200 – 1050	1200 – 1050	1200 – 1050
C-N			

Keterangan: CMC (*carboxy methyl cellulose*)



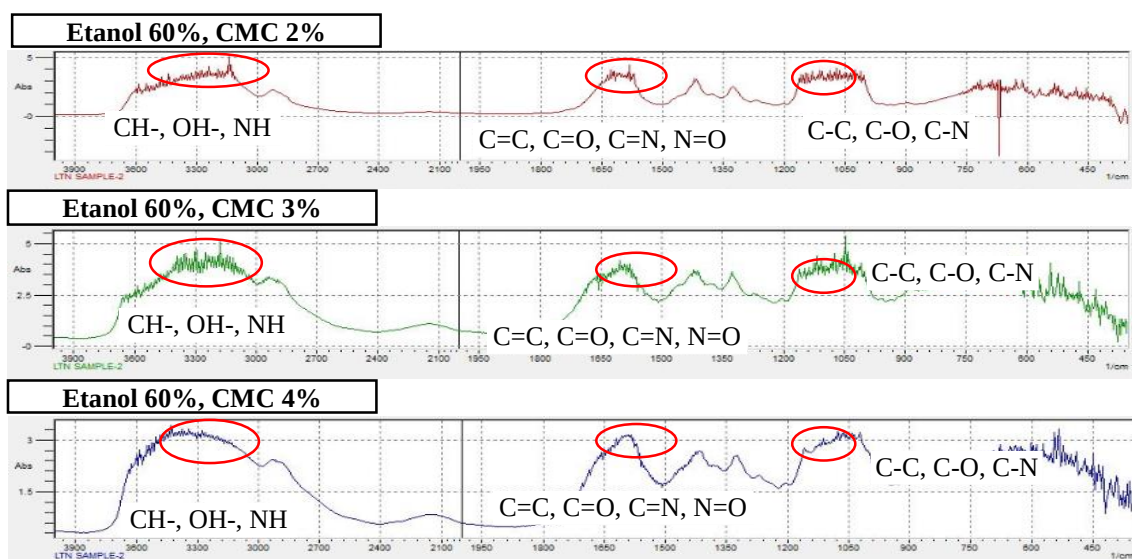
Gambar 3. Spektrum FTIR *edible film* konsentrasi pelarut etanol 40%

Edible film dengan konsentrasi etanol 40% dan konsentrasi CMC 3% serta 4% pun memiliki daerah serapan yang sama, namun untuk konsentrasi CMC 3% dengan konsentrasi etanol 40% pada daerah serapan 3500 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} , dan 1200 cm^{-1} - 1050 cm^{-1} menunjukkan intensitas serapan yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi CMC 2%. Konsentrasi CMC 4% menunjukkan bahwa intensitas pada daerah serapan 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} lebih lemah dibandingkan dengan konsentrasi CMC yang 3%, karena terdapat puncak yang bertumpang tindih, dibandingkan dengan konsentrasi CMC 2%. Perbandingan CMC 2%, 3%, dan 4% dengan konsentrasi etanol 60% dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil analisis FTIR pada *edible film* dengan konsentrasi etanol 60%

Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
	CMC 2%	CMC 3%	CMC 4%
C-H			
O-H	3500 – 3000	3500 – 3000	3500 – 3000
N-H			
C=C			
C=O	1650 – 1500	1650 – 1500	1650 – 1500
C=N			
N=O			
C-C			
C-O	1200 – 1050	1200 – 1050	1200 – 1050
C-N			

Keterangan: CMC (*carboxy methyl cellulose*)

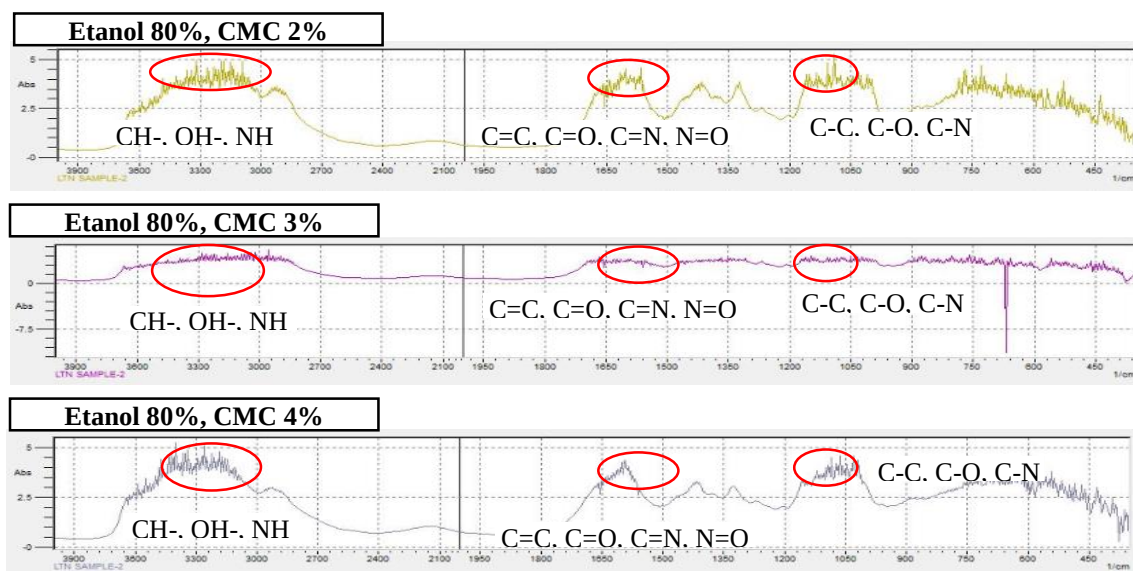


Gambar 4. Spektrum FTIR *edible film* konsentrasi pelarut etanol 60%

Tabel 3 menunjukkan terdapat ikatan rangkap dua C=C, C=O, C=N, dan N=O pada daerah serapan antara 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} , dan untuk daerah serapan antara 1200 cm^{-1} - 1050 cm^{-1} terdapat tipe ikatan C-C, C-O, dan C-N. Konsentrasi CMC 3% pada daerah serapan 3500 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} dan 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} menunjukkan intensitas serapan yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi CMC 2%. Konsentrasi CMC 4% menunjukkan bahwa intensitas pada daerah serapan 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi CMC yang 3%, karena pada konsentrasi CMC yang 4% hanya sedikit puncak yang bertumpang tindih sehingga nilai frekuensi vibrasi dari konsentrasi tersebut menjadi tinggi dan hal itu berbanding lurus dengan kekuatan ikatan.

Tabel 3. Hasil analisis FTIR pada *edible film* dengan konsentrasi etanol 80%

Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
	CMC 2%	CMC 3%	CMC 4%
C-H			
O-H	3500 – 3000	3500 – 3000	3500 – 3000
N-H			
C=C			
C=O	1650 – 1500	1650 – 1500	1650 – 1500
C=N			
N=O			
C-C			
C-O	1200 – 1050	1200 – 1050	1200 – 1050
C-N			



Gambar 5. Spektrum FTIR *edible film* konsentrasi pelarut etanol 80%

Berdasarkan data di atas dapat dikemukakan bahwa untuk konsentrasi etanol 80% dengan konsentrasi CMC 2% terlihat pada daerah serapan antara 3500 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} terdapat tipe ikatan C-H, O-H, dan N-H. Ikatan rangkap dua C=C, C=O, C=N, dan N=O terdapat pada daerah serapan antara 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} , dan untuk daerah serapan antara 1200 cm^{-1} - 1050 cm^{-1} terdapat tipe ikatan C-C, C-O, dan C-N.

Edible film konsentrasi etanol 80% dengan konsentrasi CMC 3% serta 4% pun sama untuk daerah serapan dan gugusnya, namun untuk konsentrasi 3% pada daerah serapan 3500 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} menunjukkan intensitas serapan yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi CMC 2%. Daerah serapan 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} menunjukkan intensitas yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi etanol yang 2%, untuk konsentrasi CMC 4% menunjukkan bahwa intensitas pada daerah serapan 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi CMC 3%, karena puncak yang terdapat pada konsentrasi CMC 4% tidak banyak puncak yang bertumpang tindih.

Hasil analisis di atas sejalan dengan penelitian Xu *et al.* (2008) yang menunjukkan bahwa karakteristik utama glukomanan adalah munculnya puncak pada daerah 3400 cm^{-1} (regangan O-H), 2887 cm^{-1} (regangan C-H), 1736 cm^{-1} (regangan C=O), dan 1092 cm^{-1} (regangan C-O). Korkiatithaweechai *et al.* (2011) mengemukakan bahwa pada spektrum glukomanan, serapan pada daerah 1723 cm^{-1} berasal dari bagian karbonil (C=O) dari gugus asetil. Unit manosa dan glukosa dari glukomanan ditandai munculnya puncak vibrasi tekuk C-H dari β piranosa. Kehadiran ikatan β -1,4 glukosidik dan β -1,4 manosidik ditandai dengan munculnya puncak regangan C-O-C (Widjanarko *et al.*, 2011).

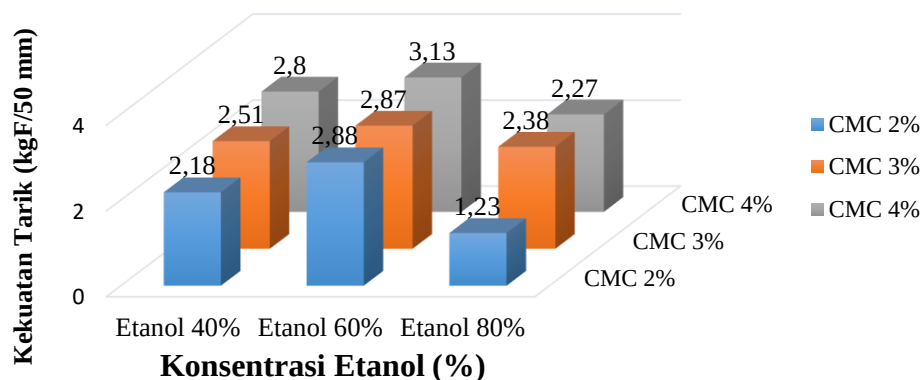
Hasil analisis kekuatan tarik *Edible Film*

Uji kuat tarik dilakukan untuk melihat seberapa besar pengaruh faktor konsentrasi etanol pada proses isolasi glukomanan dan faktor konsentrasi CMC, serta interaksi kedua faktor tersebut terhadap kekuatan tarik dari *edible film*. Hasil

analisis kuat tarik *edible film* berdasarkan variasi konsentrasi alkohol dan konsentrasi CMC disajikan pada Tabel 4 dan Gambar 3.

Tabel 4. Nilai rata-ran hasil analisis kuat tarik dari *edible film*

Konsentrasi Alkohol	Konsentrasi CMC		
	2%	3%	4%
40%	2,18	2,51	2,80
60%	2,88	2,87	3,13
80%	1,23	2,38	2,27



Gambar 3. Grafik kekuatan tarik *edible film*

Berdasarkan grafik di atas diperoleh nilai kekuatan tarik tertinggi dari *edible film* pada konsentrasi etanol 60% dengan konsentrasi CMC 4% yaitu 3,13 kgF/50 mm, sementara untuk nilai yang paling rendah yaitu pada konsentrasi etanol 80% dengan CMC 2% diperoleh nilai 1,2 kgF/50 mm. Menurut McHugh dan Krochta (1994), bahwa penggunaan *plasticizer* cenderung menurunkan nilai kuat tarik dan meningkatkan persentase pemanjangan atau elongasi pada *edible film* karena *plasticizer* dapat mengurangi gaya antar molekul dan meningkatkan mobilitas rantai biopolimer.

Lemeshko *et al.*, (2013) menyatakan kepolaran suatu larutan ditentukan dengan dipol momen. Dipol momen air 1,84 Debye lebih besar dibandingkan dengan etanol 1,69 Debye. Polaritas larutan etanol 40% lebih tinggi dibandingkan dengan larutan etanol 60% dan 80%, karena etanol 40% terdiri dari 40% etanol

dan 60% air. Hasil isolasi glukomanan dengan etanol konsentrasi rendah 40% lebih banyak karena polaritas yang lebih tinggi sehingga melarutkan senyawa-senyawa yang polar seperti kalsium oksalat, protein, pati dan abu. Pemurnian tepung glukomanan menggunakan konsentrasi etanol 60% maka kepolaran etanol lebih rendah dibandingkan etanol 40% sehingga akan melarutkan senyawa-senyawa yang tidak dapat larut oleh konsentrasi etanol 40%. Pemurnian etanol dengan konsentrasi tinggi 80% diduga kepolaran etanol akan lebih rendah sehingga akan melarutkan senyawa-senyawa yang non polar seperti lemak.

Chandra (1997) mengemukakan bahwa penambahan konsentrasi CMC pada proses pembuatan *edible film* dapat menghasilkan *edible film* yang tahan terhadap lipid dan mempunyai kelarutan yang baik. Sifat ini sangat menguntungkan terutama untuk pengemasan produk yang sebelum dikonsumsi mengalami pemanasan terlebih dahulu, film akan larut tanpa mempengaruhi sensori bahan yang dikemas. Hasil pengolahan data kekuatan tarik disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Sidik ragam kekuatan tarik *edible film*

Sumber Variasi	dk	JK	KT	F Hitung	F Tabel p=0,05	F Tabel p=0,01
Rata-rata	1	219,583	219,583	-	-	-
Perlakuan:				-	-	-
A	2	5,959	2,979	15,332**	3,354	5,488
B	2	2,668	1,334	6,865**	3,354	5,488
AB	4	1,484	0,371	1,909*	2,728	4,106
Kekeliruan	27	5,247	0,194	-	-	-
Jumlah	36	234,941	-	-	-	-
Keterangan: A = Konsentrasi etanol				** = Berbeda nyata		
B = Konsentrasi CMC				* = Tidak berbeda nyata		
AB = Interaksi faktor A dan B						

Diperoleh F_{Hitung} untuk perlakuan konsentrasi etanol (A) sebesar 15,332 dibandingkan dengan nilai F_{Tabel} sebesar 3,354 untuk taraf $p = 0,05$ dan 5,488 untuk taraf $p = 0,01$ maka diperoleh kesimpulan bahwa isolasi glukomanan dengan variasi konsentrasi etanol 40%, 60%, dan 80% nyata berpengaruh terhadap kuat tarik yang dihasilkan *edible film*. Perlakuan konsentrasi CMC (B)

diperoleh nilai F_{Hitung} sebesar 6,865 dibandingkan dengan F_{tabel} sebesar 3,354 untuk taraf $p = 0,05$ dan 5,488 untuk taraf $p = 0,01$ maka diperoleh kesimpulan bahwa variasi konsentrasi CMC berpengaruh nyata terhadap kuat tarik yang dihasilkan *edible film*. Interaksi antara konsentrasi etanol dan konsentrasi CMC (AB) diperoleh F_{Hitung} sebesar 1,909 dibandingkan dengan F_{Tabel} sebesar 2,728 untuk taraf $p = 0,05$ dan 4,106 untuk taraf $p = 0,01$, maka diperoleh kesimpulan yaitu $F_{Hitung} < F_{Tabel}$ sehingga untuk interaksi ini tidak berpengaruh nyata terhadap kuat tarik dari *edible film*.

4. KESIMPULAN

Variasi konsentrasi pelarut (etanol) pada proses isolasi glukomanan dan variasi konsentrasi CMC pada proses pembuatan *edible film* berpengaruh terhadap parameter kekuatan tarik *edible film* pada taraf signifikansi 99%, namun untuk interaksi antara kedua faktor tersebut tidak berbeda nyata. Kekuatan tarik *edible film* tertinggi yaitu 3,13 kgF/50 mm didapat dari kombinasi perlakuan konsentrasi etanol 60% dengan konsentrasi CMC 4%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin MA. 2001. Pengeringan Umbi Iles-iles secara Mekanis untuk Meningkatkan Mutu Keripik Iles-iles [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Chandra SDP. 1997. Mempelajari Pengaruh Konsentrasi CMC dan Lilin Lebah terhadap Karakteristik *Edible film* dari Bungkil Kedelai *Plasticizer* Sorbitol [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Korkiatithaweechai S, Umsarika P, Praphairaksit N, & Muangsin N. 2011. Controlled Release of Diclofenac From Matrix Polymer of Chitosan and Oxidized Konjac Glucomannan. *Mar. Drugs* 2011. 9: 1649-1663. doi:10.3390/ md9091649.

- Kurniawan F, Mulyono E, Broto W, & Permana AW. 2011. Teknologi Produksi Tepung Mannan dari Umbi Iles-iles (*Amorphophalus oncophyllus*) Bermutu *Food Grade*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Paska Panen. Cimanggu, Bogor.
- Lemeshko M, Krems RV, Doyle JM, & Kais S. 2013. Manipulation of Molecules with Electromagnetic Fields. *Molecular Physics* 111, 1648 (2013). DOI: 10.1080/00268976.2013.813595.
- Mc Hugh TH, & Krochta JM. 1994. Plasticized Whey Protein Edible Films: Water Vapour Permeability Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(2): 416-419.
- Widjanarko SB, Aji S, & Anni F. 2011. Efek Hidrogen Peroksida terhadap Fisiko-Kimia Tepung Porang dengan Metode Maserasi Ultrasonik. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Xu Z, Yang Y, Jiang Y, Sun Y, Shen Y, & Pang J. 2008. Synthesis and Characterization of Konjac Glucomannan-Graft-Polyacrylamide Via γ -irradiation. *Molecules*. 2008(13): 490-500.

**FORTIFIKASI DAN KETERSEDIAAN ZAT BESI PADA
BAHAN PANGAN BERBASIS KEDELAI MENGGUNAKAN
BESI EDTA, GLISINAT, FUMARAT, DAN SUKSINAT**

*(Iron Fortification and Its Availibity on Soybean Based Using Iron EDTA,
Glycinate, Fumarate, and Succinate)*

Fauzan Amin^{1,2}, Agustino Zulys¹, dan Ridla Bakri¹

¹Departemen Kimia, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

²Program Studi Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon-Banten

E-mail/Telp: khotibkhottob@gmail.com /085715034089

ABSTRAK

Penyebab utama dari anemia adalah rendahnya asupan zat besi dari makanan. Salah satu cara untuk mengurangi risiko anemia zat besi adalah dengan menambahkan fortifikan zat besi pada bahan pangan berbasis kedelai, seperti tempe, tahu, dan susu. Beberapa fortifikan zat besi yang biasa digunakan adalah besi EDTA, glisinat, fumarat, dan suksinat. Namun, belum diketahui jenis dan jumlah fortifikan terbaik untuk pangan berbasis kedelai. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui ketersediaan zat besi pada pangan berbasis kedelai dan menentukan jumlah fortifikan ideal yang ditambahkan pada sampel tempe, tahu, dan susu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel tempe dan susu memiliki kadar Fe tertinggi masing-masing 5,0709 mg dan 7,5684 mg dengan penambahan fortifikan besi EDTA sebesar 50 mg. Adapun sampel tahu memiliki kadar Fe tertinggi sebesar 1,5313 mg dengan penambahan besi EDTA 50 mg. Sampel susu memiliki kadar Fe mendekati kadar yang direkomendasikan (8-15 mg).

Kata kunci: anemia zat besi, fortifikasi, *in vitro*

ABSTRACT

The major cause of iron deficiency in human body is the low intake of iron from foods. One of strategy to overcome the iron deficiency anemia (IDA) in Indonesia is iron fortification to soya-based (i.e., soya milk, tempeh, and tofu) by adding iron fortificant. Some iron fortificants commonly used are iron EDTA, Glycinate, Fumarate, and succinate. However, number and the best fortificant in soybean basis is not yet known well. The objective of this research is to know and compare iron availibilty from these fortificant. The result showed that the highest iron availibilty in tempe and soymilk are 5,0709 and 7,5684 mg by adding 50 mg iron EDTA. Soybean sample also has the highest iron availibilty (1,5313 mg) by adding 50 mg iron EDTA. Soymilk sampel has iron availibilty near Reccommendation Dietary Allowance.

Key words: iron deficiency, fortificant, iron availability

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

1. PENDAHULUAN

Anemia gizi besi merupakan salah satu masalah kesehatan yang menjadi perhatian negara-negara berkembang. Hal tersebut dikarenakan kurangnya asupan zat besi yang dapat menyebabkan terganggunya proses-proses biologis dalam tubuh. Fakta terbaru menunjukkan bahwa kekurangan zat besi selama kehamilan dapat mempengaruhi pertumbuhan janin dan meningkatkan risiko kekurangan zat besi pada bayi. Para ilmuwan menemukan bahwa kekurangan zat besi pada anak-anak dapat memicu gangguan pertumbuhan fisik dan mental si kecil (Harun-Or-Rashid *et al.*, 2009).

Ada 2 jenis pendekatan yang dapat dilakukan guna mengatasi dan mencegah kekurangan zat besi, yakni pendekatan berbasis medis (*pharmaceutical based approach*) yakni dengan suplementasi dan pendekatan berbasis pangan (*food based approach*) yakni dengan perbaikan makanan/pangan dan fortifikasi pangan. Penanganan defisiensi zat besi melalui suplementasi tablet besi hanya meningkatkan kadar zat besi dalam jangka pendek, dibutuhkan biaya yang cukup tinggi, dan perlu motivasi yang berkelanjutan dalam mengkonsumsi suplemen (Mardiyati, 2008). Adapun pendekatan dengan perbaikan pangan membutuhkan biaya yang cukup tinggi serta sulit mengubah kebiasaan makan seseorang.

Fortifikasi pangan merupakan strategi yang paling tepat dalam menangani masalah defisiensi zat besi dalam jangka menengah dan panjang. Kelebihan lainnya adalah populasi sasarnya luas, tidak diperlukan sarana program khusus dalam pemberian, serta tingkat penerimaan dan tingkat kesinambungannya tinggi (Yprawira, 2010). Pangan berasal dari kedelai merupakan bahan pangan yang paling cocok digunakan untuk fortifikasi karena biasa dikonsumsi untuk semua lapisan, terutama kalangan menengah ke bawah. Hal yang harus diperhatikan dalam fortifikasi pangan adalah adanya inhibitor dalam penyerapan zat besi dan fortifikan yang digunakan.

Fortifikan menjadi salah satu kunci keberhasilan fortifikasi besi pada bahan pangan karena jenis dan jumlah fortifikan yang digunakan harus tepat sehingga memberikan sejumlah Fe yang cukup dan mudah diserap oleh tubuh. Fortifikan

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

yang biasa digunakan adalah besi EDTA, glisinat, fumarat, dan suksinat. Namun belum ada fortifikan yang optimal untuk ditambahkan pada bahan pangan berbasis kedelai. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menentukan fortifikan terbaik untuk fortifikasi zat besi pada pangan berbasis kedelai dan jumlah fortifikan ideal pada sampel bahan pangan berbasis kedelai.

2. BAHAN DAN METODE

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu pompa vakum, *Schlenk Line*, *Icebath*, kompor, kain kassa, penyaring vakum, sentrifuge, *shaking waterbath*, dan pH universal. Adapun alat uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Fourier transform infra red* (FTIR) dan *atomic absorption spectrophotometer* (AAS) Unicam 989. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe, tahu, susu kedelai, fortifikan besi fumarat, asam sitrat, glisin, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaOH, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, dan etanol. Larutan standar Fe dari $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1000 ppm (Merch), aquademin, HNO_3 0.1 M, enzim pepsin, pankreatin, ekstrak bile, dan NaHCO_3 1M.

B. Prosedur Penelitian

Besi glisinat dibuat dengan metode yang sama seperti yang dilakukan oleh Yunarti *et al.* (2013) dan besi EDTA megacu pada prosedur yang dilakukan oleh Setyawati *et al.*, 2010. Sampel pangan berbasis kedelai yang digunakan adalah tempe, tahu, dan susu. Fortifikasi ketiga sampel tersebut mengikuti metode yang digunakan oleh Trihartiani (2013) dengan penambahan fortifikan besi EDTA, glisinat, fumarat, dan suksinat (masing-masing 0 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, dan 50 mg setiap fortifikan).

Penentuan ketersediaan Fe secara *in vitro* ditentukan dengan kelarutan Fe pada kondisi fisiologikalnya menggunakan enzim pepsin pankreatin dan ekstrak bile menurut metode yang dijelaskan oleh Svanberg (1993) dan sedikit modifikasi seperti dalam Matuschek *et al.* (2001). Sebanyak masing-masing 1 gram sampel tempe dan tahu yang telah difortifikasi (dilarutkan dalam 10 mL air aquabides)

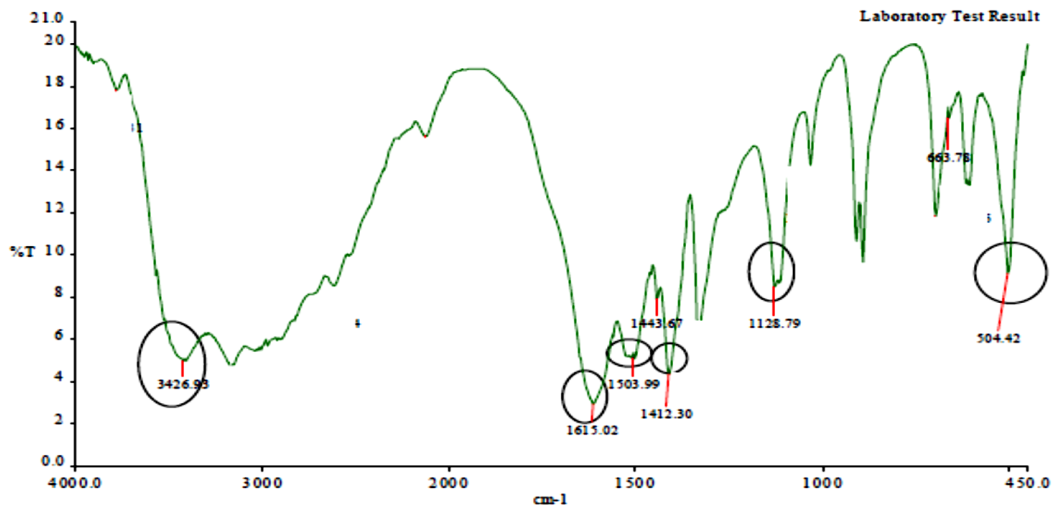
E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

atau 10 mL sampel susu ditambahkan 10 mL larutan pepsin (0,6% enzim pepsin dalam 0,1 mol/L HCl). Larutan pepsin tersebut ditambahkan langsung dalam sampel yang telah diinkubasi dalam enzim. Atur pH 2 dengan penambahan 0,1 M NaOH. Campuran diinkubasi dan diaduk dalam *shaking water bath* pada suhu 37 °C selama 90 menit. Setelah 90 menit ditambahkan 3 mL pankreatin dan larutan bile (0.012 gram pankreatin dan 0.075 gram ekstrak bile dalam 0,1 M NaHCO₃. Nilai pH diatur menjadi 5 dengan NaOH 0,1 M dan campuran disentrifuse dengan kecepatan 5000 putaran/menit selama 20 menit. Endapan disaring menggunakan filter 45 µm dan filtrat dianalisis untuk mengukur kelarutan besi dengan spektroskopi serapan atom (SSA). Jumlah kelarutan besi dalam filtrat dinyatakan sebagai persentase dari jumlah total besi dalam sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Besi Glisinat merupakan kompleks besi yang terikat dengan dua molekul kelat asam amino glisin dengan rumus molekul $\text{Fe}(\text{COOCH}_2\text{NH}_2)_2$. Ikatannya terbentuk antara besi dan gugus karboksil serta gugus amina pada glisin membentuk dua cincin heterosiklik. Kedua ikatan antara α amina glisin dan oksigen dari gugus karboksil dengan Fe^{2+} yaitu ikatan kovalen koordinasi. Gugus amina (NH_2) dan oksigen dari gugus karboksil memiliki pasangan elektron yang dapat didonorkan kepada ion Fe sehingga bertindak sebagai basa lewis dan Fe sebagai asam lewis yang menyediakan orbital kosong untuk elektron. Hasil karakterisasi FTIR besi glisinat dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil IR tersebut dapat dilihat puncak pada 1615 cm^{-1} menandakan terbentuknya cincin heterosiklik besi glisinat. Spektrum amina heterosiklik ditunjukkan pada 3426 cm^{-1} . Pucak pada 504 cm^{-1} menandakan adanya ikatan antara gugus karboksil pada glisin dan ion pusat Fe. Vibrasi ulur karboksil pada 1503 cm^{-1} . Ikatan C-N dan C-H pada pada bilangan gelombang 1128 dan 1412 cm^{-1} . Hasil tersebut sesuai dengan spektrum besi glisinat pada literatur.



Gambar 1. Hasil karakterisasi FTIR besi glisinat

Metode ketersediaan zat besi berdasarkan estimasi terlepasnya zat besi total dari makanan dengan adanya perlakuan pepsin-HCl yang merupakan simulasi yang ada pada getah lambung/cairan lambung (Narasingo dan Prabavathi, 1978). Lambung manusia memiliki kondisi yang hampir sama, yaitu kondisi asam. Hal tersebut dikarenakan adanya sekresi asam lambung oleh sel-sel mukosa lambung. Adapun enzim lain yang digunakan adalah cairan pankreatin *bile* yang menyerupai getah yang dikeluarkan oleh kelenjar pankreas. Cairan ini mengandung natrium bikarbonat yang menetralkan cairan dari lambung dan berfungsi memecah ikatan protein sampel (Miller *et al.*, 1981).

Inkubasi dalam *shaking water bath* dilakukan selama 1,5 jam pada suhu 37 °C. Selama inkubasi akan terjadi hidrolisis protein oleh enzim pepsin. Kondisi inkubasi disesuaikan dengan kondisi lambung, oleh karena itu digunakan suhu 37 °C yang merupakan suhu normal tubuh manusia. *Shaking water bath* merupakan simulasi sampel yang menyerupai gerak peristaltik lambung yang berfungsi menghomogenkan bahan makanan dengan getah lambung agar fungsi getah lambung optimal dan diperoleh campuran yang homogen.

Uji *in vitro* pada sampel tempe, tahu, dan susu dilakukan dengan penambahan fortifikan besi EDTA dan Glisinat (larut dalam air), Fumarat dan suksinat (sulit larut dalam air tetapi larut dalam asam encer). Masing-masing

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

fortifikan ditambahkan ke dalam tempe sebesar 0 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, dan 50 mg. Penambahan 0 mg bertujuan mengetahui kadar Fe tanpa adanya pengaruh penambahan fortifikan dan juga kadar Fe pada yang berasal dari kedelai. Adapun 10 mg – 50 mg dipilih karena dimungkinkan secara teori akan diperoleh kadar Fe sebesar 8 mg – 15 mg yang sesuai dengan *reccommendation dietary allowance*. Selain itu hasil penelitian Darlan (2012) menunjukkan bahwa fortifikasi ideal untuk NaFeEDTA adalah penambahan 25-45 mg. Hasil penelitian Yunarti *et al.* (2013) juga menunjukkan bahwa persen efektivitas tertinggi penambahan besi glisinat pada tempe dan tahu adalah 36 mg. Hasil uji *in vitro* tempe ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa dengan penambahan 10 mg fortifikan besi Fumarat, glisinat, dan EDTA terjadi kenaikan kadar Fe dibandingkan tanpa penambahan fortifikan (0 mg). Adapun besi suksinat baru mengalami kenaikan Fe setelah penambahan 20 mg. Kadar Fe tertinggi (5,0709 mg) diperoleh dengan penambahan 50 mg besi EDTA. Hasil tersebut cukup jauh dari kadar yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg) karena ada pengaruh *inhibitor* yang mengganggu penyerapan Fe seperti fitat dan fenol.

Tabel 1 juga menunjukkan urutan fortifikan terbaik yang ditambahkan pada tempe, yaitu besi EDTA > besi Glisinat > besi Fumarat > besi Suksinat. EDTA memiliki kemampuan melindungi besi dari inhibitor lebih baik dari besi glisinat. Adapun pada besi glisinat memiliki kelat asam amino glisin yang dapat membantu penyerapan zat besi ke dalam tubuh karena glisin merupakan kelat yang dapat melindungi Fe berikatan dengan senyawa yang mengganggu seperti polifenol. Besi fumarat dan suksinat memiliki kelarutan yang lebih rendah sehingga ketersediaannya dalam panganpun lebih rendah dari besi EDTA dan glisinat. Besi dalam bentuk kompleks yang sukar larut dalam air akan memiliki ketersediaan rendah pada pH usus kecil.

Hasil uji *in vitro* tahu ditunjukkan pada Tabel 2. Tabel tersebut menunjukkan bahwa semua sampel tahu mengalami kenaikan kandungan Fe setelah ditambahkan fortifikan minimal 10 mg. Kadar Fe tertinggi (1,5313 mg)

diperoleh dengan penambahan 50 mg besi EDTA. Hasil tersebut sangat jauh dari kadar yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg) dan lebih rendah dari kandungan Fe pada tempe karena pada tempe telah terjadi proses fermentasi. Fermentasi pada tempe dapat menurunkan *inhibitor* terhadap logam terutama senyawa fitat yang memiliki presentase sangat besar pada bahan pangan berbasis kedelai.

Tabel 1. Uji *in vitro* tempe dengan variasi fortifikan

Sampel	Fortifikan	Jumlah Penambahan (mg)	Kadar Fe (mg)
Tempe	Besi Fumarat	0	0,1396
		10	0,7530
		20	0,5241
		30	0,7370
		40	0,8720
		50	1,2977
Tempe	Besi Glisinat	0	0,1892
		10	0,7428
		20	1,0650
		30	0,4065
		40	1,5304
		50	1,1269
Tempe	Besi EDTA	0	0,1783
		10	0,8659
		20	1,5980
		30	2,8135
		40	4,4890
		50	5,0709
Tempe	Besi Suksinat	0	0,1984
		10	0,1950
		20	0,3797
		30	0,3130
		40	0,3267
		50	0,5662

Keterangan = rerata dari 2x ulangan

Tabel 2 juga menunjukkan urutan fortifikan terbaik yang ditambahkan pada tahu, yaitu besi EDTA > besi fumarat > besi glisinat > besi suksinat. Terdapat perbedaan urutan fortifikan terbaik pada sampel tempe dan tahu, yaitu besi fumarat yang sedikit lebih baik dibanding glisinat karena besi fumarat memiliki kelarutan yang lebih baik pada larutan asam encer. Pada proses pembuatan tahu ditambahkan asam cuka encer untuk membantu penggumpalan tahu. Keberadaan asam cuka tersebut dapat membuat ketersediaan fumarat lebih baik dari glisinat.

Kadar Fe pada susu kedelai yang difortifikasi dengan empat fortifikan ditunjukkan pada Tabel 3. Susu kedelai memiliki kondisi yang sama dengan sampel tahu, yaitu kandungan Fe yang meningkat dengan penambahan fortifikan minimal 10 mg. Kadar Fe tertinggi (7,5684 mg) pada penambahan fortifikan Besi EDTA sebanyak 50 mg. Hasil tersebut sangat mendekati dengan kadar yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg) dan lebih besar dibandingkan pada tahu dan tempe. Hal tersebut dikarenakan pada pembuatan susu, penambahan fortifikan dilakukan pada sari-sari kedelai yang memungkinkan *inhibitor* banyak terbuang.

Tabel 2. Uji *in vitro* tahu dengan variasi fortifikan

Sampel	Fortifikan	Jumlah Penambahan (mg)	Kadar Fe (mg)
Tahu	Besi Fumarat	0	0,0966
		10	0,2434
		20	0,1155
		30	0,1824
		40	0,2736
		50	0,4019
Tahu	Besi Glisinat	0	0,0651
		10	0,1926
		20	0,1277
		30	0,1959
		40	0,2373
		50	0,3932
Tahu	Besi EDTA	0	0,1166
		10	0,5528
		20	0,6261
		30	0,8836
		40	1,3265
		50	1,5313
Tahu	Besi Suksinat	0	0,0038
		10	0,0233
		20	0,0383
		30	0,0283
		40	0,0150
		50	0,1592

Keterangan = rerata dari 2x ulangan

Seperti halnya tempe dan tahu, Tabel 3 juga menunjukkan urutan fortifikan terbaik pada susu, yaitu besi EDTA > besi suksinat > besi fumarat > besi glisinat. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Aguilar *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa sampel susu terfortifikasi besi EDTA lebih besar penyerapannya dibandingkan besi glisinat, dan fumarat. Besi suksinat memiliki *availability* yang lebih baik pada susu dibandingkan pada tempe dan tahu. Hal

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

tersebut mungkin dikarenakan pada susu menggunakan air sebanyak 200 mL. Hal tersebut menyebabkan semakin banyak besi suksinat yang dapat larut. Besi glisinat memiliki kadar Fe terkecil dikarenakan kelarutan dan kestabilannya dipengaruhi pH. Pada pH di bawah 3 atau di atas 4, besi glisinat akan putus ikatan kelatnya (Anton *et al.*, 2006).

Tabel 3. Uji *In vitro* susu dengan variasi fortifikan

Sampel	Fortifikan	Jumlah Penambahan (mg)	Kadar Fe (mg)
Susu Kedelai	Besi Fumarat	0	0,4594
		10	0,9493
		20	1,2970
		30	1,9493
		40	1,3096
		50	2,8249
Susu Kedelai	Besi Glisinat	0	0,5348
		10	0,6884
		20	0,2009
		30	0,9545
		40	1,1973
		50	0,6223
Susu Kedelai	Besi EDTA	0	0,0691
		10	1,6582
		20	3,5127
		30	4,8891
		40	6,7995
		50	7,5846
Susu Kedelai	Besi Suksinat	0	0,6230
		10	0,9499
		20	1,6925
		30	2,1378
		40	2,1065
		50	2,5137

Keterangan = rerata dari 2x ulangan

Kadar Fe yang dihasilkan jauh lebih kecil dibandingkan dengan jumlah fortifikan yang ditambahkan karena pengaruh *inhibitor* pada pangan berbasis kedelai yaitu polifenol dan asam fitat. Satu mol polifenol dapat mengikat 3 mol Fe sehingga fortifikan besi fumarat dan suksinat cenderung memiliki kadar Fe kecil karena tidak memiliki kemampuan melindungi dari *inhibitor* polifenol. Adapun fitat memiliki rasio molar terhadap Fe adalah 2,34 pada tempe. Rasio molar yang kecil inilah yang menyebabkan tempe memiliki kadar Fe lebih besar dari tahu karena adanya fermentasi.

Selain itu, ada juga faktor kelarutan dari masing-masing fortifikan yang digunakan. Besi glisinat, EDTA, fumarat, dan suksinat masing-masing pada suhu kamar memiliki kelarutan 10 gram/25 mL, 2,625 gram/25 mL, 35 mg/25 mL, dan kurang dari 35 mg/25 mL untuk besi suksinat. Hal tersebut yang menyebabkan besi fumarat dan suksinat memiliki kadar Fe lebih kecil pada sampel tempe, tahu, dan susu.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari fortifikasi tempe, tahu, dan susu, maka disarankan untuk lebih banyak meminum susu kedelai dengan penambahan fortifikan besi EDTA agar mengurangi risiko kekurangan zat besi. Cara lainnya agar sesuai dengan kadar Fe yang direkomendasikan adalah melakukan kombinasi konsumsi tempe, tahu, dan susu. Misalnya pada pagi hari mengkonsumsi susu kedelai sebanyak 200 mL terfortifikasi 50 mg besi EDTA dan menjadikan 48 gram tempe atau 30 gram tahu terfortifikasi 10 mg besi EDTA sebagai lauk pada siang atau sore hari.

Kombinasi lainnya juga bisa dilakukan sesuai yang tertera pada Tabel 1 sampai 3 untuk mendapatkan asupan zat besi sesuai yang direkomendasikan (8-15 mg/hari). Selain itu juga dapat disimpulkan bahwa fortifikan besi EDTA lebih baik dibandingkan besi glisinat, suksinat, dan fumarat walaupun dalam sampel terdapat *inhibitor* seperti fitat dan polifenol. Ditinjau dari segi ekonomis, besi glisinat lebih mahal dibandingkan fortifikan lainnya dan besi fumarat merupakan fortifikan termurah (Turner dan Jack, 2010).

4. KESIMPULAN

Besi EDTA merupakan fortifikan yang paling baik dari besi glisinat, fumarat, dan suksinat. Hal tersebut dikarenakan besi EDTA memiliki kadar Fe tertinggi pada sampel tempe (5,0709 mg), tahu (1,5313 mg), dan susu (7,6584 mg). Hasil tersebut diperoleh dengan penambahan besi EDTA 50 mg. Adapun untuk mendapatkan fortifikan ideal diperlukan kombinasi dalam mengkonsumsi pangan berbasis kedelai per hari, misalnya susu kedelai sebanyak 200 mL terfortifikasi 50 mg besi EDTA dengan tempe terfortifikasi 10 mg besi EDTA.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Kombinasi lainnya juga bisa dilakukan untuk mencapai kadar Fe yang direkomendasikan (8 mg – 15 mg).

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar F, Charrondiere B, Dusemund P, Galtier J, & Gilbert DM. 2010. Scientific Opinion on The Use of Ferric Sodium EDTA as a Source of Iron Added for Nutritional Purposes to Foods for The General Population (Including Food Supplements) and to Foods for Particular Nutritional Uses. *Journal of European Food Safety Authority*, 8(1), 1414.
- Darlan A. 2012. Fortifikasi dan Ketersediaan Zat Besi pada Bahan Pangan Berbasis Kedelai dengan Menggunakan Fortifikan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Campuran $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan NaFeEDTA . [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Harun or-Rashid. 2009. Iron and Iodine Deficiencies Among Under-2 Children, Adolescent Girls, and Pregnant Women of Bangladesh: Association With Common Diseases. *Nagoya J. Med. Sci*, 71, 39 – 49.
- Anton R, Barlow S, Boskou D, Castle L, Crebelli R, Dekant W, Engel KH, & Forsythe S. 2006. Ferrous Bisglycinate as a Source of Iron for Use in The Manufacturing of Foods and in Food Supplements. *Journal of European Food Safety Authority*, 299, 1-17.
- Mardiyati E. 2008. Fortifikasi Garam dengan Zat Besi, Strategi Praktis dan Efektif Menanggulangi Anemia. <http://farmasi.ums.ac.id> [10 Juli 2013].
- Matuschek E, Towo E, & Svanberg U. 2001. Oxidation of Polyphenols in Phytate-Reduced High-Tannin Cereals: Effect on Different Phenolic Groups and on *In Vitro* Accessible Iron. *J Agric Food Chem*, 11, 5630-8.
- Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, & Van Campen D. 1981. An *In Vitro* Method for Estimation of Iron Availability From Meals. *Am. J. Clin. Nutr*, 34, 2248-2256.

- Narasinga R, & Prabhavathi. 1978. An *In Vitro* Method for Predicting The Bioavailability of Iron From Foods. *The Amerikan Journal of Clinical Nutrition* ,31, 1 69-175 .
- Setyawati H, & Irmia. 2010. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Besi (III) EDTA. Prosiding Seminar Nasional Sains. ISBN, 978-979-028-272-8.
- Svanberg U, Lorri W, & Sandbeag AS. 1993. Lactic Fermentation of Non-Tannin and High-Tannin Cereals: Effects on *In Vitro* Estimation of Iron Availability and Phytate Hydrolysis. *Journal of Food Science*, 58, 508 – 512.
- Trihartiani E. 2013. Efektivitas Ferrous Bisglycinate Sebagai Fortifikan Zat Besi terhadap Keberadaan Polifenol pada Pangan Berbasis Kedelai. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Turner E, & Jack. 2010. Increasing Bioavailibility of Iron Fortified Food. <http://www.ift.org> [1 Mei 2014].
- Yunarti RT, Zulys A, Harahap LY, & Pramukti MSA. 2013. Effectiveness of Iron Fortification on Soy-Based Foods Using Ferrous Bisglycinate in the Presence of Phytic Acid. *Makara Journal of Science*, 17/1, 11-16.
- Yprawira. 2010. Program Fortifikasi Pangan. <http://www.yprawira.wordpress.com/program-fortifikasi-pangan.htm> [13 Jul 2013].



9 772548 947772