

ISSN 1410-8917 e-ISSN 2597-9914



# Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi

<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/>



Volume 21 | Issue 1 | January 2018 | pages 1-53

Chemistry Department  
Diponegoro University

**Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi**  
**Journal of Scientific and Applied Chemistry**  
**Editorial Team**

**Editor in Chief**

**Dr. Adi Darmawan**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

**Editorial Board**

**Dr. Nor Basid Adiwibawa Prasetya**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

**Dr. Yayuk Astuti**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

**Dr. Choiril Azmiyawati**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

**Dr. Mukhammad Asy'ari**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

**Didik Setiyo Widodo, M.Si**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

**Publisher**

Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

Jl. Prof. Soedharto, S.H., Tembalang, Semarang, 50275

Email : [jksa@live.undip.ac.id](mailto:jksa@live.undip.ac.id)

website : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/>

Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi is indexed in



# Table of Contents

## Volume 21 Issue 1 Year 2018

### January 2018

<a href="#">Isolation of Alkaloid Compounds from Ethanol Extract of Rimpang Galang Merah (<i>Alpinia purpurata</i> (Vielli) K. Schum) and nanoparticle production from its Alkaloid Extract. Comparative Study of Antibacterial Properties on <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Eschericia</i></a> Vatara Artanta Silalahi, Enny Fachriyah, Pratama Jujur Wibawa Views: <a href="#">516</a>   DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.1-7">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.1-7</a>	1-7
<a href="#">Antibacterial Activity of Cinnamic Acid – Chitosan Encapsulation</a> Nur Amaliyah, Purbowatiningrum Ria Sarjono, Ngadiwiyanana Ngadiwiyanana, Ismiyarto DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.8-12">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.8-12</a>	8-12
<a href="#">Antioxidant from Turmeric Fermentation Products (<i>Curcuma longa</i>) by <i>Aspergillus Oryzae</i></a> Sulasyah Sulasyah, Purbowatiningrum Ria Sarjono, Agustina L. N. Aminin DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.13-18">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.13-18</a>	13-18
<a href="#">Blue Methylene Retrieval using Silica-Salicylic Acid Modified Filtering</a> Desriana Chrisyanti, Gunawan Gunawan, Abdul Haris DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.19-23">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.19-23</a>	19-23
<a href="#">Synthesis of Zeolite from Sugar Cane as Detergent Builder: Variation of Si/Al Ratio and Hydrothermal Time</a> Synthesis of Zeolite from Sugar Cane as Detergent Builder: Variation of Si/Al Ratio and Hydrothermal Time Arnelli Arnelli, Noor Afifah, Narita Rizki, Tri Windarti, Yayuk Astuti DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.24-28">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.24-28</a>	24-28
<a href="#">Decolorization of Artificial Waste Remazol Black B using Electrogenerated Reactive Species</a> Didik Setiyo Widodo, Linda Suyati, Gunawan Gunawan, Abdul Haris DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.29-33">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.29-33</a>	29-33
<a href="#">Effect of ZnO Dopant on TiO<sub>2</sub> on Simultaneous Decrease of Phenol, Pb(II) and COD using Photocatalysis Method</a> Steffita Rahayuning Purbandini, Abdul Haris DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.34-38">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.34-38</a>	34-38
<a href="#">Improvement of Bioactivity with Nanoparticle Fabrication: Cytotoxic Test of Ethanol, N-Hexane and Ethyl Acetate Extract from Red Galangal Rhizome (<i>Alpinia purpurata</i> (Vieill.) K. Schum) in Bulk and Nanoparticle size using BSLT Method</a> Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Pratama Jujur Wibawa DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.39-43">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.39-43</a>	39-43
<a href="#">Synthesis and Antibacterial Testing of Imina Derivative Compounds from Piperonal and Anilin</a> Dimas Syamsudin, Ismiyarto Ismiyarto, Ngadiwiyanana Ngadiwiyanana DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.44-48">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.44-48</a>	44-48
<a href="#">The Effect of KMnO<sub>4</sub> and K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] Concentrations on Electrical Production in Fuel Cell Microbial System with <i>Lactobacillus bulgaricus</i> Bacteria in a Tofu Whey Substart</a> Ilmi Muftiana, Linda Suyati, Didik Setiyo Widodo DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.49-53">https://doi.org/10.14710/jksa.21.1.49-53</a>	49-53



## Isolation of Alkaloid Compounds from Ethanol Extract of Rimpang Galang Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K. Schum) and nanoparticle production from its Alkaloid Extract. Comparative Study of Antibacterial Properties on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Vatara Artanta Silalahi<sup>a</sup>, Enny Fachriyah<sup>a\*</sup>, Pratama Jujur Wibawa<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [enny.fachriyah@live.undip.ac.id](mailto:enny.fachriyah@live.undip.ac.id)

### Article Info

#### Keywords:

*Alpinia purpurata*,  
alkaloid,  
isoquinoline,  
alkaloid  
nanoparticles,  
ethanol extract  
alkaloid

### Abstract

Isolation of alkaloid compounds from ethanol extract of red galangal rhizomes to compare their antibacterial properties with extracts formed into nanoparticles has been performed. The isolation of the alkaloid compounds was performed successively by salting using (i) hydrochloric acid (HCl) to pH 3 (when in ethanol) and using (ii) ammonium hydroxide (NH<sub>4</sub>OH) to pH 10 (when in chloroform). The alkaloid concentrated extract was obtained after chloroform was evaporated using a rotary evaporator. This alkaloid extract was then carried out by TLC silica gel GF254 using chloroform eluent: ethyl acetate (9: 2) to obtain a specific alkaloid type as a single/pure compound. Test of alkaloid purity successfully isolated by one-dimensional or two-dimensional TLC using various types of eluents with varying degrees of polarity, ie acetone, chloroform, ethyl acetate, ethanol and chloroform: ethyl acetate mixture (9: 2). Isolates of pure alkaloids were analyzed using UV-Vis spectrophotometers), FTIR and (LC-MS). The obtained alkaloid isolates were isokuinolin group with UV-visible absorption characteristics at maximum wavelength ( $\lambda_{maks}$ ) of 212 nm, 227 nm and 261 nm. The alkaloid isolate also showed the presence of functional groups -OH, -C-H, C = O, C = C, C = N, C-N, and C-O with molecular weight of 262.90 g/mol. The production of ethanol extract nanoparticles containing alkaloid-containing red galangal (EEAlkNPs) was performed using a top-down approach using ultrason (40 kHz, 2x50 watt) for 10 minutes. The EEAlkNPs size was determined by the dynamic light scattering method (DLS) using the Particles size analyzer (PSA) tool and obtained an average particle size of 220.2 nm. The antibacterial properties of EEAlkNPs were tested by disc diffusion method for the culture of *S.aureus* and *E.coli* bacteria. It is known that the antibacterial properties of EEAlkNPs are relatively larger than the original ethanol extract at the same concentration, ie, 2000 parts per million (bpj) or g / L.

### Abstrak

#### Kata Kunci:

*Alpinia purpurata*,  
alkaloid,  
isokuinolin,  
nanopartikel  
alkaloid, ekstrak  
etanol alkaloid

Isolasi senyawa alkaloid dari ekstrak etanol rimpang lengkuas merah untuk dibandingkan sifat antibakterinya dengan ekstrak yang dibentuk menjadi nanopartikel telah dilakukan. Isolasi senyawa alkaloid dilakukan secara berturut-turut dengan penggaraman menggunakan (i) asam klorida (HCl) hingga pH 3 (ketika dalam etanol) dan menggunakan (ii) amonium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH) hingga pH 10 (ketika dalam kloroform). Ekstrak pekat alkaloid diperoleh setelah kloroform diuapkan menggunakan

rotary evaporator. Ekstrak alkaloid ini selanjutnya dilakukan KLT silika gel GF254 menggunakan eluen kloroform:etil asetat (9:2) untuk mendapatkan jenis alkaloid tertentu sebagai senyawa tunggal/murni. Test terhadap kemurnian alkaloid yang berhasil diisolasi dengan KLT satu dimensi maupun dua dimensi menggunakan berbagai jenis eluen dengan tingkat kepolaran yang bervariasi, yaitu aseton, kloroform, etil asetat, etanol dan campuran kloroform:etil asetat (9:2). Isolat murni alkaloid dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis), FTIR dan (LC-MS). Isolat alkaloid yang diperoleh adalah golongan isokuinolin dengan karakteristik serapan UV-visible pada panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) 212 nm, 227 nm dan 261 nm. Isolat alkaloid itu juga menunjukkan adanya gugus fungsi -OH, -C-H, C=O, C=C, C=N, C-N, dan C-O dengan berat molekul sebesar 262,90 g/mol. Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang mengandung alkaloid (EEAlkNPs) dilakukan dengan metoda top-down approach menggunakan ultrason (40 kHz, 2x50 watt) selama 10 menit. Ukuran EEAlkNPs ditentukan dengan metoda dynamic light scattering (DLS) menggunakan alat Particles size analyzer (PSA) dan diperoleh ukuran partikel rata-rata 220,2 nm. Uji sifat antibakteri EEAlkNPs dilakukan dengan metode difusi cakram agar terhadap kultur bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Diketahui bahwa sifat antibakteri EEAlkNPs relatif lebih besar dibanding ekstrak etanol asal pada konsentrasi yang sama, yakni 2000 bagian per juta (bpj) atau g/L.

## 1. Pendahuluan

Tanaman keluarga *Zingiberaceae* merupakan herba yang sangat dikenal secara luas oleh masyarakat sebagai tanaman obat. Salah satu jenis tanaman ini adalah lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) yang mempunyai tinggi batang sekitar 1-2 meter. Lengkuas merah adalah tanaman berbatang semu berupa pelepah-pelepah daun, tumbuh dalam rumpun yang rapat berwarna hijau keputih-putihan. Rimpang kecil dan tebal, berdaging, berbentuk silindris, diameter sekitar 2-4 cm dan bercabang-cabang. Bagian luar agak coklat kemerah-merahan dan bersisik kemerahan keras mengkilap sedangkan dagingnya berwarna putih kemerahan. Lengkuas merah banyak digunakan sebagai suplemen makanan, mengobati sakit kepala, reumatik, sakit tenggorokan dan penyakit ginjal [1]. Disamping itu, ekstrak etanol rimpang lengkuas merah menunjukkan aktivitas yang besar sebagai antibakteri dan antifungi [2], antioksidan maupun antikanker [3].

Sifat bioaktifitas bahan alam seperti rimpang lengkuas merah seperti itu ditimbulkan oleh senyawa kimia tertentu yang ada di dalamnya, terutama yang merupakan metabolit sekunder [4, 5]. Beberapa penelitian melaporkan senyawa-senyawa metabolit sekunder rimpang lengkuas merah itu antara lain adalah golongan fenolat, alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan tannin [6], alkaloid piperin [7]. Disamping itu, Susilaningih [8] menemukan bahwa senyawa 3,6-dipentil-8-isokuinolin dapat diisolasi sebagai fraksi etil asetat rimpang lengkuas merah.

Dewasa ini, penelitian untuk meningkatkan sifat bioaktifitas suatu senyawa kimia, terutama kimia bahan alam metabolit sekunder telah merambah ketingkat nano-partikel [9]. Keunggulan khas nanopartikel secara umum, yang tidak dimiliki oleh senyawa-senyawa molekuler maupun yang berukuran makro telah menarik perhatian yang besar para peneliti untuk melakukan berbagai cara membuat nanopartikel

metabolit sekunder. Besarnya rasio luas permukaan nanopartikel terhadap volumenya adalah merupakan faktor penentu bagi peningkatan bioaktivitas senyawa dibandingkan bentuk *bulk*-nya [10]. Dalam hubungan ini, Li *dkk.* [11] berhasil membuat nanopartikel katekin yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibanding katekin *bulk*-nya, baik terhadap bakteri gram negatif, *Eschericia coli* (*E.coli*) maupun gram positif, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Akan tetapi bagaimanapun juga, penelitian yang terkait dengan pembuatan nanopartikel alkaloid rimpang lengkuas merah belum pernah dilakukan. Oleh karena itu maka penelitian ini mencoba untuk membuat nanopartikel alkaloid dimulai dari membuat nanopartikel alkaloid ekstrak etanol. Peningkatan bioaktifitas nano-partikel ekstrak alkaloid diuji sifat antibakterinya terhadap bakteri *E.coli* maupun *S. aureus*. Cara isolasi alkaloid dari rimpang lengkuas merah dan karakterisasinya tentu saja juga dikaji secara detil dalam paper ini.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah meliputi alat-alat gelas yang biasa ada di dalam laboratorium seperti labu takar, gelas ukur, beaker gelas, pipet volum, pipet mikro dan sebagainya. Disamping itu, mesin *Blender*, Lampu detektor UV, satu set alat maserasi, satu set alat Buchi *rotary evaporator*, Neraca analitik, Botol vial, Spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis), *Fourier-transformed infrared* (FT-IR), *Liquid chromatography-Mass spectrometer* (LC-MS), *Particles size analyzer* (PSA), *Magnetic stirrer*, Autoklaf, Spreader, kertas saring, inkubator, *Laminar air flow box*, dan Cawan petri. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi tiga, yang pertama adalah bahan untuk proses ekstraksi/maserasi yaitu etanol ( $C_2H_5OH$ ) dan kloroform ( $CHCl_3$ ), kedua nya berkualitas teknis, yang kedua adalah bahan untuk proses pengaraman (*salting out*) yaitu asam klorida (HCl) 37% dan larutan amoniak ( $NH_4OH$ ), dan yang ketiga

adalah bahan untuk proses elusi yaitu etil asetat ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), aseton ( $\text{CH}_3\text{CO}-\text{CH}_3$ ) dan campuran kloroform:etil asetat 9:2. Semua bahan tersebut berkualitas *pure analysis* (p.a) kecuali yang untuk proses ekstraksi. Semua bahan kimia itu diproduksi Sigma Aldrich Germany. Disamping itu juga digunakan plat KLT preparatif silika gel GF<sub>254</sub>, pereaksi Dragendorff untuk uji adanya alkaloid pada plat KLT, Aquabides dan *virgin coconut oil* (VCO) untuk pembuatan nanopartikel, kultur bakteri *E. coli* maupun *S. aureus*, *nutrient agar* untuk pembuatan Kultur padat bakteri, dan tetrasiklin klorida untuk kontrol positif biakan bakteri.

#### Ekstraksi

Rimpang lengkuas merah sebanyak 1,8 kg diiris tipis, dikeringkan dan dibuat serbuk. Serbuk sebanyak 870 g direndam di dalam Etanol 70% (proses maserasi) selama 24 jam secara berulang dengan penggantian pelarut hingga diperoleh larutan bening. Larutan ini disebut ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang diharapkan mengandung alkaloid.

#### Uji Fitokimia

Serbuk kering rimpang lengkuas merah maupun ekstrak etanol dari rimpang tersebut selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui adanya atau tidak adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin. Sampel yang mengandung alkaloid saja yang kemudian dilakukan isolasi dan penelitian lebih lanjut.

#### Isolasi Alkaloid

Terhadap ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dilakukan penggaraman dengan penambahan HCl 2 M hingga pH 3, kemudian diekstraksi menggunakan pelarut kloroform sebanyak 3 kali. Ekstrak ini selanjutnya ditambah  $\text{NH}_4\text{OH}$  hingga pH 10 dan diekstraksi kembali dengan kloroform sebanyak 3 kali. Lapisan kloroform kemudian dipekatkan dengan *Buchi rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak alkaloid total. Setelah itu, senyawa-senyawa organik yang terdapat di dalam ekstrak alkaloid ini dipisahkan dengan menggunakan plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> dan eluen kloroform : etil asetat (9:2). Noda yang terbentuk diambil dengan cara dikerok untuk dilakukan uji kandungan alkaloid total menggunakan pereaksi Dragendorff. Sampel yang positif mengandung alkaloid dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif silika gel GF<sub>254</sub> dan eluen kloroform:etil asetat (9:2) lagi. Isolat yang positif merupakan alkaloid dilakukan uji kemurnian dengan metoda KLT satu dimensi maupun dua dimensi. Dalam hal KLT satu dimensi digunakan berbagai eluen tunggal dengan tingkat kepolaran yang bervariasi, yaitu aseton, kloroform, etil asetat, etanol dan campuran kloroform : etil asetat 9:2. Sedangkan untuk KLT dua dimensi hanya digunakan eluen campuran kloroform:etil asetat 9:2 saja. Sampel merupakan senyawa tunggal (alkaloid murni) jika pada plat KLT terbentuk satu noda.

#### Analisis Struktur Alkaloid

Untuk mengetahui struktur isolat alkaloid yang diperoleh dilakukan elusidasi struktur dengan pendekatan spektroskopik menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan LC-MS.

#### Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Alkaloid

Ekstrak etanol alkaloid rimpang lengkuas merah dengan konsentrasi 2000 ppm (2 g/L) dalam akuabides dan ditambah VCO beberapa tetes sebagai stabiliser. Campuran ini kemudian diagitasi dengan gelombang suara frekwensi tinggi (*ultrasonic* 40 kHz, 50×2 watt) pada suhu 50°C selama 20 menit. Ukuran partikel yang terbentuk dianalisis dengan PSA. Partikel ini merupakan nanopartikel ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang mengandung alkaloid (EEAlkNPs).

#### Uji Aktivitas Antibakteri

Sifat antibakteri sampel yang berupa ekstrak etanol alkaloid normal (EEAlk) maupun yang berupa nanopartikel ekstrak etanol alkaloid (EEAlkNPs) diklarifikasi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Dalam hal ini, konsentrasi larutan EEAlk bervariasi sebesar 5000, 3000 dan 2000 g/L, sedangkan konsentrasi EEAlkNPs bervariasi sebesar 2000, 1000 dan 500 g/L, dengan kontrol positif tetrasiklin 100 g/L. Kultur bakteri yang sudah diremajakan dan dibiakan pada *nutrient agar* padat yang mengandung sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar dalam ruang steril.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Hasil preparasi sampel lengkuas merah adalah berupa serbuk kering sebanyak 870 g. Sampel dibuat dalam bentuk serbuk guna memperbesar luas permukaan sehingga memudahkan molekul-molekul pelarut menerobos masuk kedalam jaringan lengkuas merah dan mengambil senyawa-senyawa golongan alkaloid keluar dari jaringannya selama proses maserasi berlangsung. Adapun hasil uji penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah secara kualitatif ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1: Hasil uji fitokimia rimpang lengkuas merah

Jenis Senyawa	Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Fenolik	-	-
Triterpen	+	+
Steroid	+	+
Saponin	+	+

+ : berarti senyawa tersebut ada

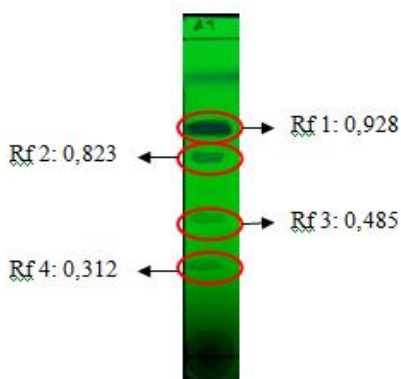
: berarti senyawa tersebut tidak ada

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada serbuk dan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpen. Data ini mirip dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Subramanian [12].

Mereka melaporkan bahwa ekstrak etanol dari rimpang *Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil maserasi serbuk rimpang lengkuas merah diperoleh 6 liter maserat etanol berwarna coklat kemerahan. Maserasi ini bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder rimpang lengkuas merah. Maserasi secara berulang dilakukan untuk memaksi-malkan proses pengambilan senyawa sehingga semua senyawa dari rimpang lengkuas merah terlarut dalam etanol. Hasil pemekatan maserat etanol rimpang lengkuas merah dengan *Buchi rotary evaporator* adalah berupa ekstrak etanol coklat kehitaman sebanyak 38 g, ini berarti rendemennya sekitar 4,6 %.

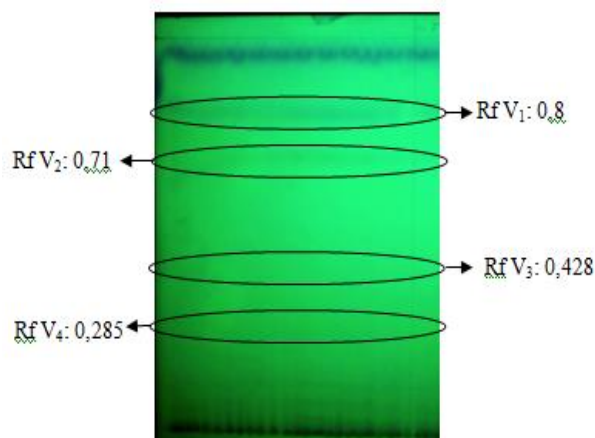
Selanjutnya alkaloid dapat diambil dengan cara mengubahnya menjadi garam alkaloid menggunakan asam klorida sehingga terbentuk dua lapisan, lapisan atas merupakan lapisan etanol, mengandung jauh lebih banyak garam alkaloid, dan lapisan bawah yang merupakan lapisan kloroform, mengandung lebih sedikit garam alkaloid. Lapisan etanol ini kemudian dipisahkan dari lapisan kloroform dan dibasakan kembali menggunakan larutan amoniak untuk menghidrolisis garam alkaloid menjadi senyawa alkaloid bebas. Alkaloid yang telah bebas bersifat sedikit polar sehingga dapat larut ke dalam lapisan kloroform. Oleh karena itu untuk mendapatkan alkaloid, lapisan etanol ini ditambah kloroform sehingga terbentuk dua lapisan dimana alkaloid akan berada di lapisan kloroform. Setelah kloroform diuapkan, diperoleh ekstrak alkaloid total sebanyak 3 g, yang berarti rendemennya sekitar 0.363 %.

Hasil KLT terhadap ekstrak alkaloid total ini diperoleh 4 noda dengan  $Rf_1 = 0.928$ ,  $Rf_2 = 0.823$ ,  $Rf_3 = 0.485$  dan  $Rf_4 = 0.312$  seperti yang ditampilkan pada Gambar 1. Setelah dilakukan uji penampak bercak dengan pereaksi Dragendorff dapat diketahui bercak yang positif merupakan alkaloid adalah yang memberikan warna merah bata, yaitu bercak pertama dengan  $Rf = 0.928$ .  $Rf$  merupakan waktu retensi senyawa pada plat KLT yang dihitung dengan rumus  $Rf = L_n/L_b$  dimana  $L_n$  adalah jarak perjalanan noda dari titik totolan sampai berhentinya noda,  $L_b$  adalah panjang batas lintasan noda pada plat KLT yang telah ditentukan (jarak batas atas-batas bawah),  $L_n < L_b$ .



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak alkaloid dengan eluen kloroform : etil asetat (9:2), diamati dengan sinar UV panjang gelombang ( $\lambda$ ) 254 nm.

Bercak/noda pertama ( $Rf = 0.928$ ) itu selanjutnya dikerok, dilarutkan kedalam kloroform, disaring dan dilakukan KLT preparatif pada plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> berukuran 20 cm×20 cm menggunakan eluen yang paling sesuai, yaitu campuran kloroform:etil asetat (9:2). Hasil pemisahan dengan KLT preparatif ini adalah munculnya empat pita yang dikode sebagai  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$ , dan  $V_4$  seperti yang ditunjukkan pada gambar 2. Gambar 2 menunjukkan sampel yang diperoleh dari noda 1 ( $Rf = 0,928$ ) pada Gambar 1 ternyata masih memberikan empat pita pada plat KLT preparatif. Hal ini mengindikasikan bahwa di dalam sampel tersebut terdapat empat kelompok senyawa golongan alkaloid.



Gambar 2. Hasil KLT preparatif ekstrak alkaloid total dengan eluen kloroform : etil asetat (9:2), diamati dengan sinar UV panjang gelombang ( $\lambda$ ) 254 nm.

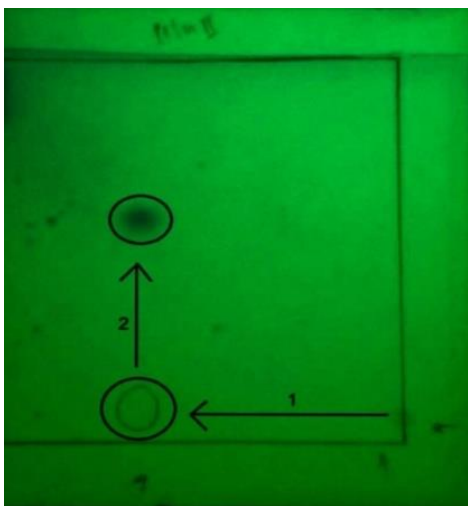
Dalam hal ini kita fokus untuk menginvestigasi lebih lanjut senyawa alkaloid yang memberikan pita  $V_1$  ( $Rf = 0,8$ ), yakni senyawa dengan  $Rf$  yang paling mendekati  $Rf = 0,928$  pada Gambar 1.

Tabel 2: Hasil Uji Kemurnian Pita  $V_1$

Eluen	Jumlah noda	Rf
Aseton	1 noda hijau gelap	0,93
Etil asetat	1 noda hijau gelap	0,67
Kloroform	1 noda hijau gelap	0,31
Metanol	1 noda hijau gelap	0,88
Kloroform:Etil asetat (9:2)	1 noda hijau gelap	0,83

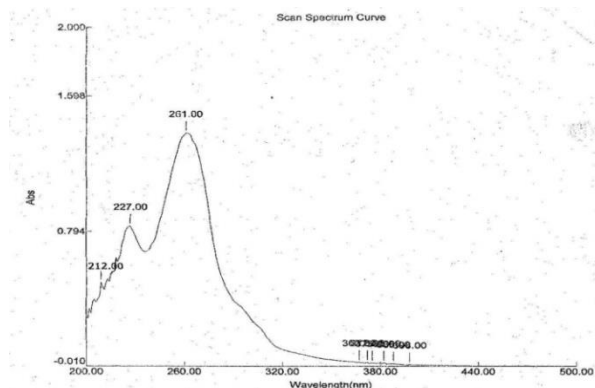
Pita  $V_1$  itu dikerok, dilarutkan ke dalam kloroform, disaring dan dilakukan KLT satu dimensi maupun dua dimensi menggunakan berbagai variasi tingkat kepolaran eluen untuk mengklarifikasi apakah ia merupakan senyawa alkaloid tunggal atau masih merupakan campuran. Hasil uji kemurnian isolat pita  $V_1$  ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan isolat pita  $V_1$  pada Gambar 2 selalu memberikan satu noda ketika dielusi dengan berbagai variasi kepolaran pelarut. Hasil KLT dua dimensi terhadap isolat  $V_1$  ini dengan eluen kloroform:etil asetat (9:2) dan dengan eluen etil asetat saja ditampilkan pada gambar 3.



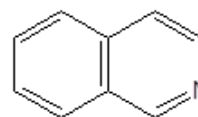
Gambar 3. Hasil KLT dua dimensi isolat pita V<sub>1</sub> dengan (1) eluen pertama kloroform:etil asetat (9:2) dan (2) eluen kedua etil asetat. Diamati dengan lampu UV panjang gelombang ( $\lambda$ )=254 nm.

Hasil KLT dua dimensi menunjukkan noda tunggal dengan eluen pertama kloroform:etil asetat (9:2) dan setelah diputar 90° dan dielusi kembali dengan etil asetat tetap menunjukkan noda tunggal. Data pada Tabel 2 dan Gambar 3 meyakinkan kita bahwa isolat pita V<sub>1</sub> merupakan senyawa murni golongan alkaloid. Isolat pita V<sub>1</sub> yang berhasil dikoleksi sebanyak 12 mg dengan, ini berarti rendemennya sekitar 0,0014% jika dihitung dari massa awal sampel. Selanjutnya, ketika isolat V<sub>1</sub> dilarutkan kedalam metanol dan dianalisis dengan spektrometer UV-Vis pada panjang 200–600 nm memberikan dua puncak maksimum panjang gelombang ( $\lambda_{maks}$ ), yakni 227 nm dan 261 nm seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.



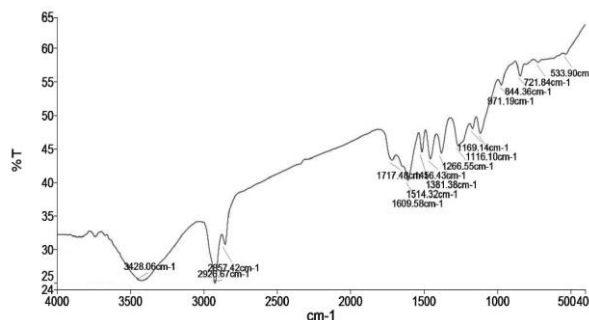
Gambar 4. Spektrogram UV-Vis Isolat pita V<sub>1</sub>

Dalam kasus ini,  $\lambda_{maks}$  261 nm dihasilkan oleh energi eksitasi elektron  $\pi$  ( $\pi$ ) yang terdapat pada orbital ikatan  $\pi$  ( $\pi$ ) ke orbital anti ikatan  $\pi^*$  ( $\pi^*$ ) sistem terkonjugasi struktur aromatik. Sementara itu  $\lambda_{maks}$  227 nm dihasilkan oleh eksitasi elektron bebas (*non bonding electrons*) yang terdapat pada orbital tak ikatan ke orbital anti ikatan  $\pi^*$  ( $\pi^*$ ). Dalam konteks ini, struktur molekul yang memiliki ketiga jenis orbital itu, yaitu orbital ikatan  $\pi$  aromatis, orbital tak ikatan dan orbital anti ikatan  $\pi$  aromatis adalah senyawa golongan alkaloid yang memiliki struktur dasar isokuinolin gambar 5.



Gambar 5. Kerangka dasar alkaloid isokuinolin

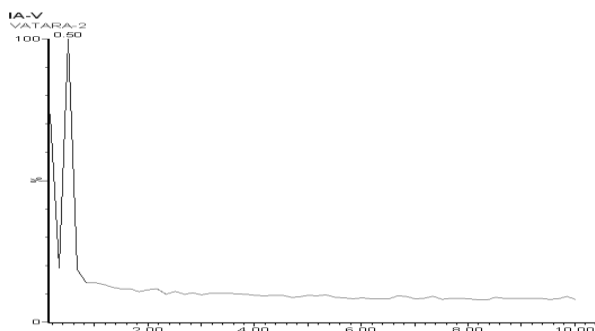
Terlihat dengan jelas pada Gambar 5 bahwa isokuinoline memiliki 10 elektron  $\pi$  yang menempati lima orbital  $\pi$  yang salah satunya adalah  $\pi C-N$ , empat lainnya  $\pi C-C$ . Disamping itu isokuinoline juga memiliki sepasang elektron bebas yang terletak pada orbital atom nitrogen yang tidak berikatan. Keadaan ini berarti sesuai dengan data spektra UV-Vis gambar 4. Lebih lanjut, hasil analisis isolat V<sub>1</sub> menggunakan spektrofotometer FTIR ditampilkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektrogram FTIR Isolat Pita V<sub>1</sub>

Berdasarkan Silverstein *dkk.* [13] spektrogram gambar 6 ini dapat diinterpretasi sebagai berikut, puncak bilangan gelombang ( $\nu$ ) 3428,06  $cm^{-1}$  merupakan spektra vibrasi ulur simetris ikatan O-H. Sedangkan  $\nu$  2926,67  $cm^{-1}$  dan 2857,42  $cm^{-1}$  berturut-turut merupakan spektra vibrasi ulur C-H asimetri dan simetri. Sementara vibrasi tekuk ikatan C-H ini muncul pada  $\nu$  1456,43  $cm^{-1}$  dan 1381,38  $cm^{-1}$ . Selanjutnya,  $\nu$  1717,48  $cm^{-1}$  dan 1169,14  $cm^{-1}$  berturut-turut merupakan spektra vibrasi ulur ikatan C=O dan C-O. Muncul pula  $\nu$  1514,32  $cm^{-1}$  yang merupakan vibrasi ulur ikatan C=N dalam kerangka,  $\nu$  1609,58  $cm^{-1}$  merupakan vibrasi ulur ikatan C=C aromatis. Demikian pula  $\nu$  971,19; 844,36 dan 721,54  $cm^{-1}$  yang merupakan vibrasi tekuk ikatan C-H aromatis keluar bidang.

Selanjutnya, hasil analisis isolat pita V<sub>1</sub> menggunakan LC-MS ditunjukkan pada Gambar 7.

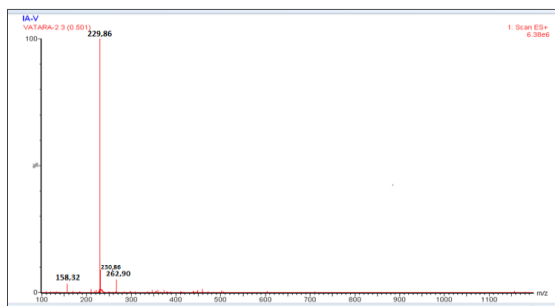


Gambar 7. Kromatogram LC isolat pita V<sub>1</sub>

Gambar 7 ini menunjukkan bahwa isolat pita V<sub>1</sub> masih merupakan campuran dua senyawa golongan alkaloid berstruktur dasar isokuinolin sesuai dengan



munculnya dua puncak kromatogram. Terlihat intensitas yang lebih tinggi ditunjukkan oleh puncak kedua dengan waktu retensi 0,50 menit. Puncak kedua ini memberikan spektrogram massa seperti pada Gambar 8.

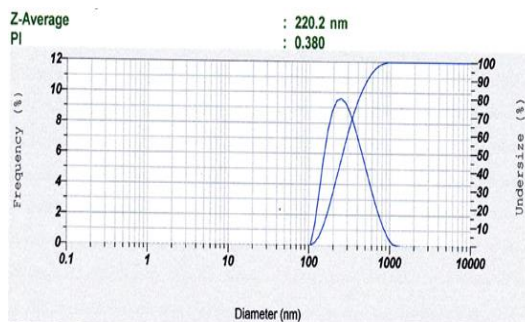


Gambar 8. Spektrogram massa puncak kedua gambar 7

Terlihat pada Gambar 8 puncak dengan protonasi ion molekular  $[M]^+$  m/z 262.90. Ini berarti berat molekul senyawa alkaloid tersebut adalah 262,90 g/mol.

Dilain fihak, hasil pembuatan nano-partikel ekstrak etanol alkaloid rimpang lengkuas merah (EEAlkNPs) diperoleh larutan yang lebih keruh dibandingkan sampel ekstrak etanol normal (mula-mula). Mekanisme pembentukan EEAlkNPs dengan metoda *top-down approach* menggunakan ultrason ini diawali oleh terjadinya ruang kosong (kavitasi) pada medium sebesar satu molekul air karena rusaknya ikatan H–O–H akibat paparan gelombang ultrasonik yang merambat di dalam medium air yang bersangkutan [14]. Pada saat ruang kosong itu terbentuk, kumpulan molekul alkaloid ekstrak etanol menempel pada dinding bagian luar ruang kosong dan distabilkan oleh adanya molekul-molekul penyusun VCO. Bersamaan dengan itu, udara yang terlarut didalam medium terserap kedalam ruang kosong secara terus menerus secara difusi dan menyebabkan ukuran ruang kosong semakin membesar hingga mencapai titik kritis dan meledak. Ledakan ini menghamburkan molekul-molekul alkaloid yang kemudian terdispersi secara sempurna kedalam sistem water/oil (w/o) yang distabilkan oleh molekul-molekul VCO membentuk partikel-partikel alkaloid berukuran nano, yang dalam penelitian ini disebut EEAlkNPs.

Hasil analisis ukuran EEAlkNPs menggunakan alat particles size analyzer (PSA) ditampilkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil analisis ukuran nanopartikel ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan PSA

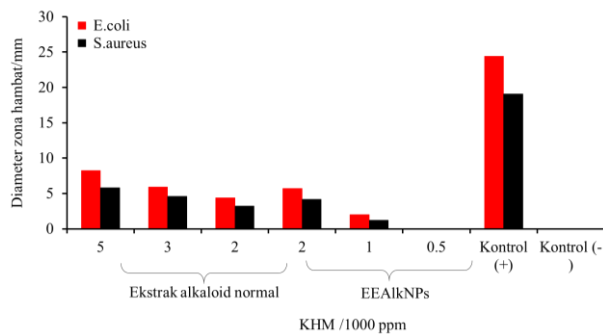
Gambar 9 menunjukkan bahwa ukuran rata-rata partikel EEAlkNPs secara keseluruhan (*Z-average*) adalah 220,2 nm dengan indeks polidispersi (PI) 0,380. Meskipun begitu, kurva distribusi ukuran partikel EEAlkNPs tersebut mengindikasikan bahwa sebenarnya populasi partikel itu bervariasi antara 100 nm hingga 1000 nm. Dari sejumlah populasi partikel EEAlkNPs itu lebih dari 65% mempunyai ukuran rata-rata 220,2 nm.

Lebih lanjut, hasil uji sifat antibakteri terhadap ekstrak etanol rimpang lengkuas merah berukuran normal maupun terhadap EEAlkNPs ditampilkan pada Tabel 3. Terlihat pada tabel ini bahwa sifat antibakteri kedua sampel tersebut, yang diungkapkan dengan nilai konsentrasi hambat pertumbuhan bakteri minimum (KHM) untuk bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), adalah berbeda secara signifikan.

Tabel 3: Hasil uji sifat antibakteri ekstrak alkaloid normal dan EEAlkNPs

KHM Sampel (ppm)	Diameter Zona Hambat							
	<i>E. coli</i>				<i>S. aureus</i>			
	1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata
<b>Ekstrak Alkaloid normal</b>								
5000	8,2	8	8,5	8,23	5,3	6,1	6	5,80
3000	6	5,9	5,8	5,9	4,4	5	4,6	4,6
2000	4,1	4,8	4,3	4,4	3,5	3	3,2	3,23
<b>EEAlkNPs</b>								
2000	5,4	5,8	5,9	5,7	4,1	4,1	4,3	4,16
1000	2,2	2	1,9	2,03	1	1,5	1,2	1,23
500	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrol (+)	24,5	24,2	24,6	24,43	19	18,5	19,1	19,06
Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-	-	-

Dalam kasus ini, tampak untuk KHM yang sama, yaitu 2000 ppm, zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstrak alkaloid normal terhadap *E.coli* dan *S.aureus* secara berturut-turut adalah rata-rata 4,4 mm dan 3,23 mm. Sementara itu, zona hambat yang ditimbulkan oleh EEAlkNPs terhadap kedua bakteri tersebut secara berturut-turut adalah 5,7 mm dan 4,16. Ini berarti EEAlkNPs memiliki sifat antibakteri yang lebih baik dibanding ekstrak alkaloid ukuran normalnya, terutama pada KHM 2000 ppm. Perbandingan sifat antibakteri antara ekstrak alkaloid normal dan EEAlkNPs secara lebih lengkap dapat ditampilkan dalam bentuk grafik seperti pada Gambar 10.



Gambar 10. Perbandingan sifat antibakteri antara ekstrak alkaloid normal dan EEAlkNPs terhadap *E.coli* dan *S.aureus*.

Terlihat pada Gambar 10 bahwa baik ekstrak alkaloid normal maupun EEAlkNPs lebih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* (gram negatif) dibanding bakteri *S.aureus* (gram positif) untuk setiap konsentrasi sampel yang diuji.

#### 4. Kesimpulan

Isolasi senyawa alkaloid rimpang lengkuas merah yang memiliki struktur dasar isokuinolin berhasil dilakukan dengan menggunakan etanol. Demikian pula pembuatan nanopartikel ekstrak etanol alkaloid (EEAlkNPs) juga berhasil dilakukan dengan baik. Sifat antibakteri alkaloid dalam bentuk nanopartikelnya meskipun masih sebagai ekstrak etanol (EEAlkNPs) lebih baik dibanding masih dalam bentuk dan ukuran molekul normalnya, baik terhadap bakteri *E.coli* maupun *S.aureus*.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Narayan Das Prajapathi, S. S. Purohit, Arun K. Sharma, Tarun Kumar, A handbook of medicinal plants: A complete source book, Agrobios, India, 2003.
- [2] KP Kochuthressia, S John Britto, MO Jaseentha, L Joelri Michael Raj, SR Senthilkumar, Antimicrobial efficacy of extracts from *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. against human pathogenic bacteria and fungi, *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 6, (2010) 1249-1252 <http://dx.doi.org/10.5251/abjna.2010.1.6.1249.1252>
- [3] Chinthamony Arul Raj, Paramasivam Ragavendran, Dominic Sophia, Muthaiyan Ahalliya Rathi, Velliyur Kanniappan Gopalakrishnan, Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of *Alpinia purpurata*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10, 4, (2012) 263-268 [http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(12\)60053-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(12)60053-3)
- [4] Ayu Ni'mah Azifa, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah, Identifikasi Senyawa Sitotoksik dalam Ekstrak Kloroform Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan GC-MS, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 1, (2014) 23-26
- [5] Ika Pratiwi Khosimah Adinata, Khairul Anam, Dewi Kusriani, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Aktif Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Uji Aktivitas Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 2, (2013) 42-45
- [6] KR Subash, Bhaarathi G Muthulakshmi, Rao N Jagan, Vargheese Cheriyan Binoy, Phytochemical screening and acute toxicity study of ethanolic extract of *Alpinia galanga* in rodents, *International Journal of Medical Research and Health Sciences*, 2, 1, (2013) 93-100
- [7] Hasnah Mohd Sirat, Md Liamen, Chemical constituents of *Alpinia purpurata*, *Pertanika Journal of Science & Technology*, 3, 1, (1995) 67-71
- [8] Ratna Susilaningasih, Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*), Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [9] Ravichandran Veerasamy, Tiah Zi Xin, Subashini Gunasagaran, Terence Foo Wei Xiang, Eddy Fang Chou Yang, Nelson Jeyakumar, Sokkalingam Arumugam Dhanaraj, Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities, *Journal of Saudi Chemical Society*, 15, 2, (2011) 113-120 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.004>
- [10] R. Kelmani Chandrakanth, C. Ashajyothi, A. K. Oli, C. Prabhurajeshwar, Potential Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles Synthesised from Enterococcus Species, *Oriental Journal of Chemistry*, 30, 3, (2014) 1253-1262 <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300341>
- [11] Huanhuan Li, Quansheng Chen, Jiewen Zhao, Khulal Urmila, Enhancing the antimicrobial activity of natural extraction using the synthetic ultrasmall metal nanoparticles, *Scientific reports*, 5, (2015) 11033 <http://dx.doi.org/10.1038/srep11033>
- [12] Vadivel Subramanian, Evaluation of antioxidant activity of *Alpinia purpurata* rhizome (Vieill), *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 2, 4, (2016) 601-607
- [13] Robert M Silverstein, G Clayton Bassler, Terence C Morrill, Spectroscopic identification of organic compounds, Wiley, New York, (1981) 196
- [14] Inbar Yariv, Anat Lipovsky, Aharon Gedanken, Rachel Lubart, Dror Fixler, Enhanced pharmacological activity of vitamin B12 and penicillin as nanoparticles, *International journal of nanomedicine*, 10, (2015) 3593



## Antibacterial Activity of Cinnamic Acid – Chitosan Encapsulation

Nur Amaliyah<sup>a</sup>, Ngadiwiyana<sup>a</sup>, Purbowatiningrum Ria Sarjono<sup>a,\*</sup>, Ismiyanto<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [purbowatining@live.undip.ac.id](mailto:purbowatining@live.undip.ac.id)

### Article Info

**Keywords:**  
 Cinnamic acid,  
 Encapsulation,  
 Chitosan  
 Nanopathic, Drying  
 frozen, antibacterial

**Kata Kunci:**  
 Asam Sinamat,  
 Enkapsulasi,  
 Nanopartikel  
 Kitosan, Freeze  
 drying, antibakteri

### Abstract

The biggest cinnamon bark is cinnamic acid. The inhibitory activity of bacterial growth of *S. aureus* and *E. coli* and its abundance in nature becomes the superiority of cinnamic acid as antibacterial. However, the use of cinnamic acid as an antibacterial is still less than optimal because of low solubility in water. One of the latest technologies to address the problem is encapsulation in nanometer size. Encapsulation of cinnamic acid using chitosan nanoparticles as an encapsulation material was shown to increase the activity of cinnamic acid as antibacterial by protecting the active compound, as well as increasing its solubility in water through chitosan-TPP modification. Emulsion formation was performed using Corning LSE Compact at 6,000 rpm for 30 minutes. The formation of chitosan nanoparticles as encapsulation material was done using freeze dryer with freeze drying method. Chitosan was obtained from shrimp chitin with Deacetylation Degree (% DD) of 85.98%. The synthesis of chitosan nanoparticles yielded an average particle size of 330 nm with a percentage volume of 29.9% and 79.1% with an average size of 5570 nm. The morphological form of nanometer-sized chitosan was smaller and uniform than that of chitosan morphology. Encapsulation efficiency value of 67.304% makes cinnamic acid has higher activity inhibition of bacterial growth than pure cinnamic acid and chitosan nanoparticles.

### Abstrak

Kandungan kulit kayu manis terbesar adalah asam sinamat. Aktivitas daya hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* serta kelimpahannya di alam menjadi keunggulan asam sinamat sebagai antibakteri. Namun, penggunaan asam sinamat sebagai antibakteri masih kurang optimal karena kelarutan yang rendah dalam air. Salah satu teknologi terkini untuk mengatasi masalah tersebut adalah enkapsulasi dalam ukuran nanometer. Enkapsulasi asam sinamat menggunakan nanopartikel kitosan sebagai bahan enkapsulan ditunjukkan untuk meningkatkan aktivitas asam sinamat sebagai antibakteri dengan cara melindungi senyawa aktif, serta meningkatkan kelarutannya dalam air melalui modifikasi kitosan-TPP. Pembentukan emulsi dilakukan menggunakan Corning LSE Compact dengan kecepatan 6.000 rpm selama 30 menit. Pembentukan nanopartikel kitosan sebagai bahan enkapsulan dilakukan menggunakan freeze dryer dengan metode freeze drying. Kitosan diperoleh dari kitin limbah udang dengan nilai Derajat Deasetilasi (%DD) sebesar 85,98%. Sintesis nanopartikel kitosan menghasilkan ukuran partikel rata-rata sebesar 330 nm dengan volume prosentase 29,9% dan 79,1% dengan ukuran rata-rata 5570 nm. Bentuk morfologi kitosan berukuran nanometer lebih kecil dan seragam dibandingkan bentuk morfologi kitosan. Nilai efisiensi enkapsulasi 67,304% menjadikan asam sinamat memiliki aktivitas daya hambat pertumbuhan bakteri yang lebih tinggi dibandingkan asam sinamat murni dan nanopartikel kitosan.

## 1. Pendahuluan

Asam 3-fenil-2-propenoat atau asam sinamat merupakan senyawa yang salah satunya berasal dari isolasi kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) famili *Lauraceae* [1]. Asam sinamat bersifat non-toksik dan memiliki berbagai aktivitas biologis, salah satunya antibakteri [2]. Asam sinamat mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *S. aureus* pada konsentrasi 1,5 ppm dan bakteri Gram negatif *E. coli* pada konsentrasi 7 ppm [3]. Keunggulan ini menyebabkan asam sinamat sangat prospektif dikembangkan sebagai antibakteri.

Penggunaan asam sinamat sebagai antibakteri masih terbatas karena kelarutannya yang rendah dalam air, yaitu 0,5 gram per liter [4]. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk mengatasi kekurangan asam sinamat tersebut, salah satunya adalah nanoteknologi. Penerapan nanoteknologi dapat meningkatkan stabilitas termal, bioavailabilitas oral, dan kelarutannya dalam air [5]. Salah satu aplikasi nanoteknologi yang saat ini sering digunakan, yaitu nanoenkapsulasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses enkapsulasi adalah jenis penyalut yang digunakan [6]. Kitosan telah terbukti dapat dijadikan sebagai penyalut [7, 8] karena memiliki keunggulan, seperti bersifat non-toksik, mukoadhesif, biodegradable, *biocompatible* [9], serta memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Penelitian Goy *dkk.* [10] telah membuktikan bahwa kitosan mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *S. aureus* pada konsentrasi 1250 ppm dan bakteri Gram negatif *E. coli* pada konsentrasi 1000 ppm. Kitosan berukuran nano meter dibuat dengan mereaksikan antara kitosan dan natrium tripolifosfat sehingga mampu meningkatkan kelarutannya dalam air [11].

Pada akhirnya, aktivitas antibakteri yang sinergis antara asam sinamat dan kitosan serta kelarutan asam sinamat dalam air yang meningkat diharapkan mampu menjadi solusi untuk meningkatkan aktivitas asam sinamat sebagai antibakteri.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, seperangkat alat refluks, termometer, neraca analitik (ohaus), *magnetic stirrer*, *sentrifuge* 6000rpm (Corning LSE Compact), inkubator (Labnes 311DS), *Laminar Air Flow* (Thermo Scientific), *autoklaf*, *Scanning Electron Microscope* (SEM) (JEOL), *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (shimadzu 8201 PC), *Freeze Dryer* (LL1500), *Particle Size Analyzer* (PSA) (Microtrac), dan Spektrofotometer UV-Visible (Merck). Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*), aquades, HCl 1 N (*p.a.*, Merck), NaOH (Merck), NaOCl teknis, indikator PP, kertas saring, asam sinamat (*p.a.*, Sigma Aldrich), sodium tripolyphosphate (Na-TPP) (*p.a.*, Sigma Aldrich), ekstrak ragi (yeast

extract), NaCl (Merck), nutrisi agar (Merck), suspensi (stok) bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, dan tween 80.

### Isolasi Kitin dan Sintesis Kitosan dari Cangkang Udang

Isolasi kitin dan kitosan dari cangkang udang meliputi beberapa tahap, yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi, dan deasetilasi. Tahap awal dimulai dengan pencucian cangkang udang menggunakan air hangat dan direbus dalam air selama 1 jam. Cangkang udang dikeringkan di bawah sinar matahari. Bahan yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak pada ayakan 60 mesh.

Tahap awal disebut sebagai deproteinasi. Serbuk cangkang udang yang telah diayak sebanyak 25 gram dimasukkan dalam labu alas bulat 500 mL, kemudian ditambahkan 100 mL NaOH 4% (b/v). Campuran tersebut direfluks selama 1 jam pada temperatur 100° C dengan pengadukkan menggunakan *magnetic stirrer*. Hasil refluks, selanjutnya dicuci menggunakan aquades sampai netral, disaring dan dikeringkan dalam oven selama 2 jam pada temperatur 60° C.

Tahap berikutnya, demineralisasi. Hasil dari tahap sebelumnya diambil sebanyak 10 gram, kemudian ditambah dengan 150 mL HCl 1N, diaduk selama 1 jam pada temperatur kamar. Proses selanjutnya dicuci dengan aquades sampai filtrat netral dan dikeringkan.

Tahap penghilangan pigmen (zat warna) disebut dengan tahap depigmentasi/ dekolonisasi. Prosesnya, sampel diambil sebanyak 2,5 gram dan ditambahkan dengan 25 mL NaOCl, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Hasilnya disaring dan dikeringkan sehingga diperoleh kitin.

Kitin hasil proses sebelumnya diambil sebanyak 1,5 gram, ditambahkan dengan 22,5 mL NaOH, dan direfluks pada suhu 80° C selama 1 jam sehingga dihasilkan kitosan. Tahap ini disebut sebagai deasetilasi.

Kitin dan kitosan dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang ada di dalamnya.

### Sintesis Nanopartikel Kitosan

Metode yang digunakan dalam sintesis nanopartikel kitosan adalah metode gelas ionik [12]. Asam asetat glasial 1 mL diencerkan menjadi 100 mL menggunakan aquades menghasilkan larutan asam asetat glasial. Kitosan sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam larutan asam asetat glasial menghasilkan larutan kitosan. Na-TPP sebanyak 0,25 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades menghasilkan larutan TPP, kemudian larutan kitosan ditambahkan dengan larutan TPP tetes demi tetes sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Larutan agak kental yang dihasilkan, di *sentrifuge* dengan kecepatan 6000 rpm selama 1 jam sehingga menghasilkan suspensi dan supernatan. Suspensi dikeringkan menggunakan *freeze dryer* sehingga dihasilkan nanopartikel kitosan. Nanopartikel kitosan dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan *Particle Size Analyzer* (PSA).

**Enkapsulasi Asam Sinamat Dalam Nanopartikel Kitosan**

Metode yang digunakan dalam enkapsulasi asam sinamat dengan nanopartikel kitosan adalah freeze drying. Na-TPP sebanyak 0,25 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades menghasilkan larutan TPP. Asam sinamat sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam larutan TPP menghasilkan larutan asam sinamat. Asam asetat glasial sebanyak 1 mL dilarutkan menjadi 100 mL menggunakan aquades sehingga menghasilkan larutan asam asetat glasial. Kitosan sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat glasial menghasilkan larutan kitosan, kemudian larutan asam sinamat diteteskan ke dalam larutan kitosan.

Larutan agak kental yang dihasilkan, kemudian dilakukan *sentrifuge* dengan kecepatan 6000 rpm selama 30 menit hingga menghasilkan suspensi dan supernatan. Suspensi dikeringkan menggunakan *freeze dryer* sehingga dihasilkan serbuk enkapsulasi asam sinamat-kitosan. Serbuk enkapsulasi asam sinamat-kitosan kemudian dihitung efisiensi enkapsulasi (%EE) menggunakan spektrofotometer UV-Visible.

Panjang gelombang dan konsentrasi yang diperoleh, kemudian dibuat grafik [11], selanjutnya dihitung dengan persamaan,

$$\%EE = \frac{\text{Konsentrasi awal} - \text{Konsentrasi bebas}}{\text{Jumlah total asam sinamat}} \times 100\%$$

**Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji antibakteri dilakukan dengan pengambilan bakteri *S. aureus* dan *E. colisesuai* standar Mc. Farland 0,5 dengan 5 variasi konsentrasi, yaitu 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, 1250 ppm. Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Cakram kertas dengan ukuran diameter 0,55 mm diimpregnasi dengan larutan ekstrak yang terdiri dari asam sinamat, nanopartikel kitosan, dan hasil enkapsulasi asam sinamat-kitosan.

**3. Hasil dan Pembahasan**

**Isolasi Kitin dan Sintesis Kitosan dari Cangkang Udang**

Cangkang udang mengandung beberapa komponen, diantaranya protein, kalsium karbonat, dan kitin.

Tabel 1: Hasil isolasi kitin dan sintesis kitosan dari cangkang udang

Tahap	Berat sampel	Berat hasil perlakuan	Rendemen
Deproteinasi	25 gram	15,65 gram	62,60%
Demineralisasi	5 gram	2,63 gram	52,60%
Depigmentasi	2,5 gram	1,62 gram	64,80%
Deasetilasi	1,5 gram	1,186 gram	79,06%

Isolasi kitin melalui tahap deproteinasi dengan tujuan menghilangkan protein dari cangkang udang. Rendemen yang diperoleh pada tahap ini sebesar 62,60%. Hal ini menunjukkan bahwa lebih dari 50% protein pada cangkang udang terlepas dan membentuk Na-proteinat yang dapat larut.

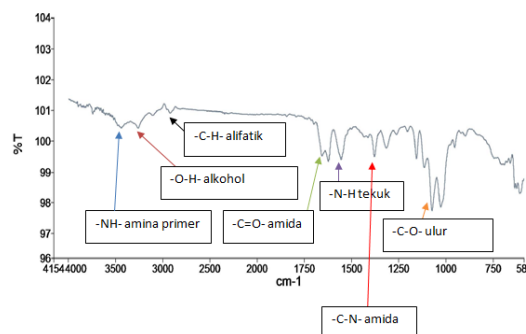
Tahap demineralisasi dengan tujuan menghilangkan senyawa anorganik yang terdapat pada cangkang udang. Rendemen yang diperoleh pada tahap ini sebesar 52,60%, menunjukkan bahwa telah terjadi proses pemisahan mineral pada cangkang udang [13].

Tahap depigmentasi untuk menghilangkan pigmen (zat warna) pada limbah udang menghasilkan rendemen sebesar 64,80%.

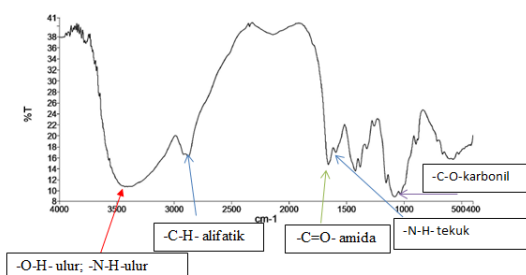
Proses selanjutnya, sintesis kitin melalui tahap deasetilasi kitin untuk mengubah gugus asetil (-NHCOCH<sub>3</sub>) pada kitin menjadi gugus amina (-NH<sub>2</sub>) pada kitosan dengan penambahan suhu tinggi. Rendemen yang diperoleh sebesar 79,06%. Hal ini menunjukkan bahwa gugus asetil telah hilang lebih dari 50% melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada gugus amin.

**Hasil Analisis Kitin Dan Kitosan**

Keberhasilan isolasi kitin dan sintesis kitosan dapat dilihat melalui analisis menggunakan FTIR, seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Spektrum FTIR Kitin

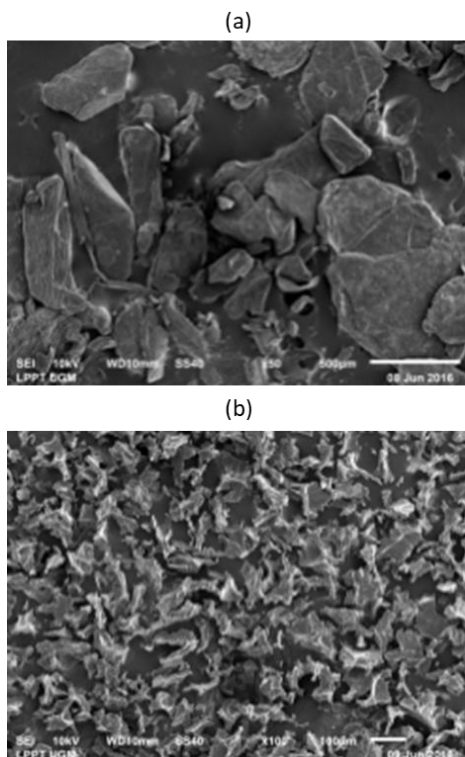


Gambar 2. Spektum FTIR Kitosan

Perbedaan peak yang terlihat jelas antar kitin dan kitosan pada bilangan gelombang sekitar 3500 cm<sup>-1</sup>. Spektrum kitosan menunjukkan peak yang melebar pada bilangan gelombang sekitar 3500 cm<sup>-1</sup> karena -NH amina primer lebih banyak dibandingkan pada kitin. Hal ini memperlihatkan salah satu keberhasilan sintesis kitosan dengan adanya perubahan gugus fungsi pada kitin. Nilai derajat deasetilasi (DD) sebesar 85,98%, kitin yang berubah menjadi kitosan sebesar 85,98%. Dibandingkan dengan kitosan dari Brataco dengan DD sebesar 65,63% [14].

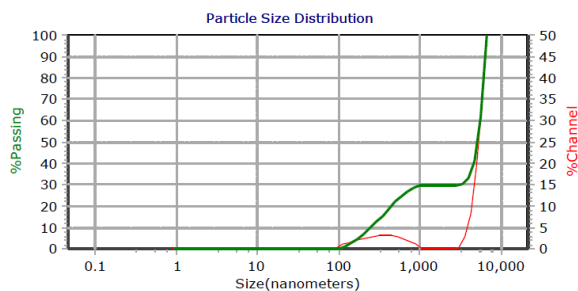
**Sintesis Nanopartikel Kitosan**

Nanopartikel kitosan dibuat dengan mereaksikan antara kitosan dan Na-TPP. Gugus amina (NH<sub>2</sub>) pada kitosan menjadi bermuatan positif (<sup>+</sup>NH<sub>3</sub>) ketika kitosan dilarutkan dalam asam asetat glasial, sedangkan natrium tripolifosfat yang dilarutkan dalam aquades mengalami ionisasi dan dapat membentuk polianion tripolifosfat. Hal ini mengakibatkan adanya interaksi ionik antara gugus bermuatan positif (<sup>+</sup>NH<sub>3</sub>) dengan gugus bermuatan negatif tripolifosfat (H<sub>3</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub><sup>2-</sup>) (Ngah dan Fathinathan, 2010). Hasil karakterisasi kitosan dan nanopartikel kitosan menggunakan SEM ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. (A) Hasil analisis Scanning Electron Microscope Kitosan; (B) Scanning Electron Microscope Nanopartikel Kitosan.

Terlihat perbedaan morfologi permukaan antara kitosan dan nanopartikel kitosan. Ukuran partikel pada morfologi permukaan nanopartikel kitosan lebih kecil dibandingkan kitosan. Selain itu, nanopartikel memiliki bentuk yang lebih seragam dibandingkan kitosan. Ukuran partikel diinterpretasikan melalui karakterisasi PSA. Berikut adalah hasil karakterisasi PSA.



Gambar 4. Hasil analisis nanopartikel kitosan menggunakan Particle Size Analyzer

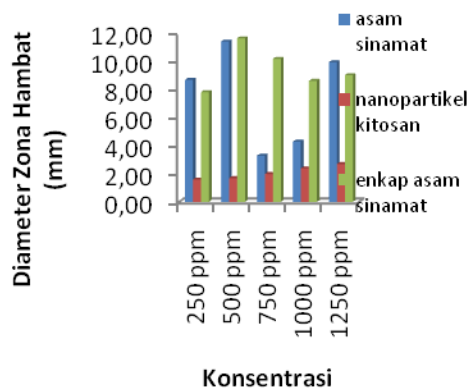
Berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan Particle Size Analyzer ([15]PSA), distribusi ukuran partikel kitosan menunjukkan bahwa 70,1% ukuran partikel kitosan belum terbentuk nanopartikel (Gambar 4). Mode pertama memiliki ukuran partikel rata – rata sebesar 5570 nm dan mode kedua menunjukkan ukuran partikel rata – rata sebesar 330 nm dengan volume presentase 29,9% sehingga dapat disimpulkan bahwa partikel yang terbentuk sudah berukuran nano meskipun partikel yang berukuran mikro lebih banyak terbentuk. Hal ini karena nanopartikel kitosan belum terbentuk secara belum menyeluruh.

**Hasil Enkapsulasi Asam Sinamat Dalam Nanopartikel Kitosan**

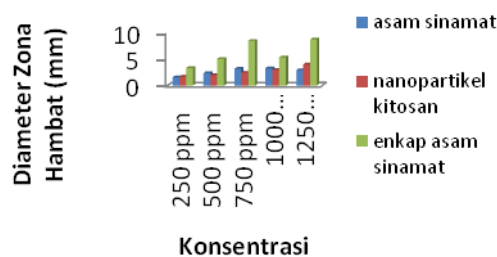
Nilai efisiensi enkapsulasi yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 64,304%. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan nanopartikel kitosan dalam menyalut asam sinamat sudah melebihi 50% dari jumlah asam sinamat awal.

**Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri pada sampel asam sinamat, kitosan, serta hasil enkapsulasi asam sinamat dalam nanopartikel kitosan dilakukan dengan metode cakram pada medium agar yang dibuat variasi konsentrasi 250 ppm; 500 ppm; 750 ppm; 1000 ppm; 1250 ppm menggunakan bakteri gram positif *S.aureus* dan bakteri gram negatif *E.coli*. Hasil yang diperoleh dalam uji antibakteri antara asam sinamat, nanopartikel kitosan, dan hasil enkapsulasi asam sinamat-kitosan ditampilkan pada gambar 5 terhadap bakteri gram positif *S.aureus* dan gambar 6 terhadap bakteri gram negatif *E.coli*.



Gambar 5. Diagram uji aktivitas terhadap bakteri *S. aureus*



Gambar 6. Diagram uji aktivitas terhadap bakteri *E. coli*

Berdasarkan diagram yang terdapat pada Gambar 5 dan 6 menunjukkan aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang lebih tinggi daripada asam sinamat dan nanopartikel kitosan. Hal ini sesuai dengan hipotesa karena adanya sinergisitas antara asam sinamat dan kitosan yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Dapat disimpulkan, tujuan enkapsulasi ini telah tercapai dalam meningkatkan aktivitasnya sebagai antibakteri.

#### 4. Kesimpulan

Nanopartikel kitosan mampu melindungi senyawa aktif pada asam sinamat melalui proses enkapsulasi, sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan senyawa murni asam sinamat. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan beberapa variasi konsentrasi antara asam sinamat dengan kitosan sehingga dapat diketahui hasil efisiensi maksimum dan aktivitas antibakteri yang lebih baik.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Jeffry Julianus, Elvan Luckyvano, Sintesis Asam Sinamat Dari Benzaldehida Dan Asam Malonat Dengan Katalis Dietilamina, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 11, 1, (2016)
- [2] Marcellino Rudyanto, Lanny Hartanti, Synthesis of Some Cinnamic Acid Derivatives: Effect of Groups Attached on Aromatic Ring to the Reactivity of Benzaldehyde, *Indonesian Journal of Chemistry*, 8, 2, (2010) 226–230
- [3] Sandrina A. Heleno, Isabel C. F. R. Ferreira, Ana P. Esteves, Ana Ćirić, Jasmina Glamočlija, Anabela Martins, Marina Soković, Maria João R. P. Queiroz, Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters, *Food and Chemical Toxicology*, 58, (2013) 95–100  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.025>
- [4] John A Hoskins, The occurrence, metabolism and toxicity of cinnamic acid and related compounds, *Journal of Applied Toxicology*, 4, 6, (1984) 283–292
- [5] Qingrong Huang, Hailong Yu, Qiaomei Ru, Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology, *Journal of food science*, 75, 1, (2010)
- [6] A Sakha Rujita, Karakteristik Mikrokapsul Minyak Atsiri Lengkuas dengan Maltodekstrin Sebagai Enkapsulan [Characteristics of Galangal Essential Oil Microencapsulation Using Maltodextrin Encapsulant], *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24, 2, (2013) 201
- [7] Cleonice Gonçalves da Rosa, Caroline Dellinghausen Borges, Rui Carlos Zambiasi, Michael Ramos Nunes, Edilson Valmir Benvenuto, Suzane Rickes da Luz, Roseane Farias D'Avila, Josiane Kuhn Rutz, Microencapsulation of gallic acid in chitosan,  $\beta$ -cyclodextrin and xanthan, *Industrial Crops and Products*, 46, (2013) 138–146  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.053>
- [8] Mike TL Tobing, Nor Basid Adibawa Prasetya, Khabibi Khabibi, Peningkatan Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Rajungan dengan Variasi Konsentrasi NaOH dan Lama Perendaman, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 14, 3, (2011) 83–88
- [9] R. Harris, E. Lecumberri, I. Mateos-Aparicio, M. Mengibar, A. Heras, Chitosan nanoparticles and microspheres for the encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*, *Carbohydrate Polymers*, 84, 2, (2011) 803–806  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.003>
- [10] Rejane C Goy, Douglas de Britto, Odilio BG Assis, A review of the antimicrobial activity of chitosan, *Polímeros*, 19, 3, (2009) 241–247
- [11] S. Hassani, A. Laouini, H. Fessi, C. Charcosset, Preparation of chitosan-TPP nanoparticles using microengineered membranes – Effect of parameters and encapsulation of tacrine, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 482, (2015) 34–43  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.04.006>
- [12] Lok P. Singh, Sriman K. Bhattacharyya, Rahul Kumar, Geetika Mishra, Usha Sharma, Garima Singh, Saurabh Ahalawat, Sol-Gel processing of silica nanoparticles and their applications, *Advances in Colloid and Interface Science*, 214, (2014) 17–37  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.007>
- [13] Emma Rochima, Karakterisasi kitin dan kitosan asal limbah rajungan Cirebon Jawa Barat, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 10, 1, (2010)  
<http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v10i1.965>
- [14] Westriani Prambaningrum, Khabibi Khabibi, Muhammad Cholid Djunaidi, Adsorpsi Ion Besi (III) dan Kadmium (II) Menggunakan Gel Kitosan, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12, 2, (2009) 47–51
- [15] W. S. Wan Ngah, S. Fatinathan, Adsorption characterization of Pb(II) and Cu(II) ions onto chitosan-tripolyphosphate beads: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies, *Journal of Environmental Management*, 91, 4, (2010) 958–969  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.12.003>



## Antioxidant from Turmeric Fermentation Products (*Curcuma longa*) by *Aspergillus Oryzae*

Sulasyiah<sup>a</sup>, Purbowatiningrum Ria Sarjono<sup>a\*</sup>, Agustina L. N. Aminin<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [agustina.aminin@live.undip.ac.id](mailto:agustina.aminin@live.undip.ac.id)

### Article Info

**Keywords:**  
 turmeric,  
 fermentation,  
*Aspergillus oryzae*,  
 antioxidant, total  
 phenolic,  
 phytochemicals

**Kata Kunci:**  
 kunyit, fermentasi,  
*Aspergillus oryzae*,  
 antioksidan, total  
 fenolat, fitokimia

### Abstract

The antioxidant capacity of natural materials can be improved by fermentation. In this study, turmeric rhizome was fermented by *Aspergillus oryzae*. Fermentation products were obtained with fermentation time of 14, 21 and 28 hours. Furthermore, the fermentation product was extracted using ethanol and determined its antioxidant capacity by DPPH damping method, total phenolate determination and phytochemical screening. The results showed that the antioxidant capacity of fermentation products was higher than without fermentation. Antioxidant activity increased with length of fermentation with the value of antioxidant capacity without fermentation and with incubation for 14, 21, and 28 days respectively of 17.0; 27.3; 33.3; and 34.1 mg quercetin/gram extract. The total phenolate of fermentation products was 261; 324,3; 361; 374.3 mg of gallic acid/gram extract. Ethanol extracts of fermented and non-fermented products all contain entirely positive alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, quinones, and steroids.

### Abstrak

Kapasitas antioksidan bahan alam dapat ditingkatkan dengan cara fermentasi. Pada penelitian ini, rimpang kunyit difermentasi oleh *Aspergillus oryzae*. Produk fermentasi diperoleh dengan lama fermentasi 14, 21 dan 28 jam. Selanjutnya, produk fermentasi diekstrak menggunakan etanol dan ditentukan kapasitas antioksidannya dengan metode peredaman DPPH, penentuan total fenolat serta penapisan fitokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan produk fermentasi lebih tinggi dibandingkan tanpa fermentasi. Aktivitas antioksidan meningkat dengan lamanya fermentasi dengan nilai kapasitas antioksidan tanpa fermentasi dan dengan inkubasi selama 14, 21, dan 28 hari berturut-turut sebesar 17,0; 27,3; 33,3; dan 34,1 mg kuersetin/gram ekstrak. Total fenolat produk fermentasi adalah berturut-turut sebesar 261; 324,3; 361; 374,3 mg asam galat/gram ekstrak. Ekstrak etanol produk fermentasi dan tanpa fermentasi seluruhnya positif mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, kuinon, dan steroid.

### 1. Pendahuluan

Antioksidan sebagai senyawa bioaktif yang dapat menunda atau mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas. Sebenarnya dalam tubuh manusia sudah memproduksi antioksidan. Namun, adanya asap rokok, polusi udara, radiasi ultraviolet, dan pola hidup yang kurang baik dapat menjadikan mudahnya radikal bebas

memasuki tubuh. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua macam yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami umumnya berupa senyawa-senyawa fenolik yang terdapat dalam berbagai tanaman [1], sedangkan antioksidan sintetik, seperti butilhidroksianisol (BHA) dan butilhidroksitoluen (BHT), merupakan antioksidan yang



dirancang berdasarkan mekanisme penghambatan radikal oleh antioksidan alami [1-3]. Hal ini disebabkan karena kemudahan dalam mendapatkan dan mengkonsumsinya, sehingga dianggap lebih praktis. Selain itu, antioksidan sintetis juga memiliki kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan antioksidan alami. Namun bila antioksidan sintetis ini dikonsumsi secara berlebihan dan berkelanjutan dikhawatirkan munculnya penyakit degeneratif yaitu penyakit yang disebabkan karena kemunduran fungsi sel tubuh [4].

Salah satu sumber antioksidan alami adalah rimpang kunyit (*Curcuma longa*) [5]. Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu bahan baku obat tradisional yang banyak tersebar di Indonesia dan telah banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Hasil penelitian sebelumnya, diketahui bahwa khasiat kunyit terutama disebabkan oleh dua kelompok kandungan kimia utamanya, yaitu senyawa berwarna kuning golongan kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid rimpang kunyit terdiri atas dua jenis senyawa yaitu kurkumin dan desmetoksi kurkumin yang berkhasiat menetralkan racun dan sebagai antioksidan pengangkal senyawa-senyawa radikal yang berbahaya. Terbatasnya kapasitas antioksidan dalam antioksidan alami menyebabkan perlu adanya usaha untuk meningkatkan kapasitas antioksidan dari antioksidan alami tersebut, yaitu dengan cara fermentasi. Fermentasi ialah proses perubahan suatu substrat menjadi produk tertentu yang diinginkan dengan menggunakan bantuan aktivitas mikroba.

Beberapa penelitian telah melaporkan hasil fermentasi rimpang kunyit. Aktivitas Antioksidan dari rimpang kunyit yang diinokulasi dengan Jamur Mikoriza arbuscular, terjadi peningkatan yang signifikan dari metabolit sekunder tanaman yang diinokulasi dibandingkan dengan yang tidak diinokulasi, mengungkapkan bahwa kapasitas antioksidan kunyit yang kuat terhadap radikal DPPH. Tujuan Penelitian ini adalah mendapatkan produk fermentasi kunyit (*Curcuma longa*) oleh *Asperillus oryzae*. Produk fermentasi kunyit diharapkan memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding tanpa fermentasi.

## 2. Metode Penelitian

### Bahan dan Alat

Rimpang kunyit diperoleh dari desa Protomulyo kecamatan Kaliwungu selatan kabupaten Kendal yang berusia satu tahun enam bulan. Jamur *Aspergillus oryzae* dari koleksi Lab Biokimia. Potato Dextrose Broth (Sigma), DPPH, Folin-Ciocalteu, etanol 96%, ammonia,

HCl 2 N, NaOH, pereaksi Dragendorff, Pereaksi mayer, kertas saring, serbuk Mg, amil alkohol, asam anhidrida, eter, amonia 25%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, FeCl<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KCl, quersetin, asam galat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, kloroform, amil alkohol, HCl.

Alat yang digunakan meliputi autoklaf (steam sterilizer type YXQ-SG4), inkubator, Spektrofotometri

UV-Vis (T60U Spectrometer), mikroskop digital (Shimadzu UV-1201).

### Preparasi Kunyit

Sebanyak 5 kg rimpang kunyit dicuci bersih kemudian dipotong tipis-tipis. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, setelah kering diblender hingga halus dan disaring sampai 60 mesh.

### Peremajaan *Aspergillus oryzae*

Stok jamur *Aspergillus oryzae* diambil menggunakan jarum ose steril kemudian di celupkan kedalam medium PDB, dan diinkubasi pada suhu ruang, spora jamur yang sudah tumbuh dihitung dengan alat hemositometer hingga diperoleh spora 10<sup>6</sup>.

### Fermentasi Kunyit

Sebanyak 10 gram serbuk kunyit ditambahkan larutan mineral 15 ml (KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit. Penambahan 30% (v/w) suspensi spora dan diinkubasi dengan variasi waktu 14, 21, 28 jam.

### Ekstraksi produk fermentasi

Hasil fermentasi kunyit dilakukan perendaman dalam etanol 96% teknis selama 24 jam dengan perbandingan 1:10. Rendaman tersebut disaring menggunakan pompa vakum yang dibantu corong buchner. Filtrat dipindahkan ke labu ukur 100 mL.

### Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat

Larutan asam galat (dalam metanol) dibuat dalam konsentrasi 100, 200, 300, 400 mgL<sup>-1</sup>. Sebanyak 0,2 ml larutan asam galat berbagai konsentrasi ditambahkan 2,3 aquades dan 0,5 ml reagen folin ciocalteu, kocok dan diamkan 5 menit pada suhu 25°C. Tahap selanjutnya sebanyak 3ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% ditambahkan dalam larutan kemudian dikocok kembali hingga homogen dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Larutan berwarna biru kemudian dianalisis dengan UV-VIS pada panjang gelombang 760 nm. Kurva standar dibuat dengan memasukkan konsentrasi asam galat (mgL<sup>-1</sup>) terhadap absorbansi.

### Penentuan Total Fenolat dalam Ekstrak Kunyit

Penentuan kandungan fenolat total ditentukan dengan menggunakan reagen folin-ciocalteu. Sebanyak 0,2 ml larutan ekstrak kunyit ditambahkan 2,3 aquades dan 0,5 ml reagen folin ciocalteu, kocok dan diamkan 5 menit pada suhu 25°C. Tahap selanjutnya sebanyak 3ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% ditambahkan dalam larutan kemudian dikocok kembali hingga homogen dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Larutan berwarna biru kemudian dianalisis dengan UV-VIS pada panjang gelombang 760 nm. Kurva standar dibuat dengan memasukkan konsentrasi asam galat (mgL<sup>-1</sup>) terhadap absorbansi.

### Uji Aktivitas Antioksidan Metode perendaman DPPH

Panjang gelombang DPPH ditentukan dengan mengukur absorbansi maksimum pada rentang panjang

gelombang 400–600 nm. Kontrol yang digunakan adalah 3 mL DPPH 0,1 mM dengan 1ml metanol yang telah homogen dan diinkubasi 30 menit. Nilai absorbansi kontrol dan sampel digunakan untuk menghitung % Inhibisi.

$$Pi = [(Ak-As)/Ak] \times 100\%$$

Keterangan:

Pi : Persen inhibisi

Ak : Absorbansi kontrol

As : Absorbansi sampel

#### Identifikasi Alkaloid

Sejumlah 2 mL ekstrak ditambahkan 2 mL HCl dan 4 mL metanol dipanaskan pada 95°C selama 5 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

- 1 mL filtrat ditambahkan 2 tetes reagen Mayer. Hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna putih.

- 1 mL filtrat ditambahkan 2 tetes reagen Dragendorff. Hasil positif dengan terbentuknya endapan jingga coklat.

#### Identifikasi Flavonoid

Sejumlah 1mL ekstrak ditambahkan 2 mL metanol. Filtrat sejumlah 1 mL ditambahkan dengan 1 mg serbuk Mg, 0,5 mL HCl pekat, dan 1 mL amil alkohol kemudian dikocok kuat. Bila lapisan amil alkohol berwarna jingga atau merah jingga berarti sampel mengandung flavonoid.

#### Identifikasi Saponin

Sejumlah 1 mL ekstrak ditambahkan 2 mL metanol. Kemudian dilakukan pemanasan hingga hampir mendidih lalu larutan dikocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang tidak hilang selama ± 5 menit dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih juga tidak hilang, maka sampel mengandung saponin.

#### Identifikasi Tanin

Sejumlah 1 mL ekstrak ditambahkan 2 mL metanol kemudian disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambah 2 tetes FeCl<sub>3</sub>. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna coklat kemerahan [6].

#### Identifikasi Kuinon

Sejumlah 1 mL ekstrak ditambahkan 2 mL metanol kemudian disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambah 2 tetes NaOH 1 M. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah.

#### Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes asam asetat anhidrida dan 2 tetes asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Fermentasi kunyit oleh *Aspergillus oryzae* dilakukan untuk meningkatkan kapasitas antioksidan kunyit untuk tujuan sebagai nutraceutical. Starter *Aspergillus oryzae* yang digunakan untuk fermentasi kunyit yaitu sebanyak 10<sup>6</sup> spora/mL suspensi yang dilakukan dengan alat hemositometer. Pengamatan dilakukan pada kunyit yang telah difermentasi dan tanpa fermentasi meliputi parameter warna, dan bau. Perubahan fisik terjadi pada kunyit produk fermentasi, kunyit sebelum difermentasi berwarna kuning dan setelah dilakukan fermentasi terjadi perubahan warna kuning kecoklatan. Proses perubahan warna pada fermentasi ini mungkin disebabkan karena pigmen karotenoid dan kurkuminoid pada kunyit mengalami degradasi akibat pembentukan asam-asam organik. Kurkuminoid merupakan konstituen utama pada spesies kurkuma, senyawa tersebut merupakan senyawa fenolik. Kunyit memiliki bau yang khas dari hasil fermentasi dengan *Aspergillus oryzae* disebabkan adanya senyawa aromatik.

Tahap setelah fermentasi, kunyit dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut harus disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang ingindipisahkan, dalam hal ini untuk mendapatkan hasil maserasi yang tidak toksik, kemudian diuji aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan yang diharapkan pada umumnya berasal dari senyawa fenolik yang bersifat polar sehingga membutuhkan pelarut yang bersifat polar pula. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan pompa vakum agar mendapatkan volume yang tetap.

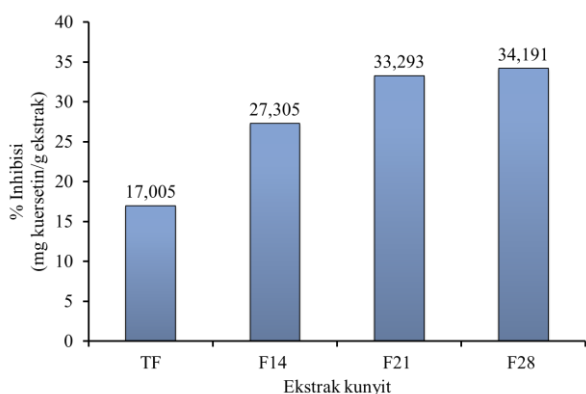
#### Antioksidan Produk Fermentasi

Pengukuran kapasitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan reagen DPPH. Reagen DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan radikal bebas yang menerima sebuah elektron atau hidrogen untuk diubah menjadi molekul diamagnetik. Prinsip kerja pada metode ini yaitu penangkapan radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dari senyawa antioksidan pada radikal bebas DPPH. Molyneux [7] menyebutkan bahwa larutan DPPH mudah teroksidasi yang ditandai dengan berubahnya warna larutan dari ungu muda menjadi kuning.

Hal tersebut menunjukkan bahwa DPPH sudah tidak berada dalam keadaan radikal (elektron sudah berpasangan). Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode pengukuran serapan radikal DPPH tereduksi pada panjang gelombang 517 nm yang menggambarkan besarnya aktivitas suatu antioksidan dalam meredam radikal bebas. Metode ini dipilih karena secara teknis cara kerjanya mudah dan cepat dengan pengukuran aktivitas yang baik untuk berbagai senyawa terutama senyawa fenolik.

Parameter yang dapat digunakan untuk menggambarkan kapasitas antioksidan adalah nilai persen inhibisi. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas [7]. Nilai persen inhibisi ekstrak etanol kunyit tanpa

fermentasi dan produk fermentasi oleh *Aspergillus oryzae* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Persen inhibisi ekstrak etanol kunyit tanpa fermentasi dan fermentasi oleh *Aspergillus oryzae* tanpa fermentasi (TF), fermentasi hari ke-14 (F14), ke-21 (F21), dan ke-28 (F28)

Berdasarkan gambar 1 menunjukkan bahwa fermentasi kunyit dengan *Aspergillus oryzae* mampu meningkatkan kapasitas antioksidan kunyit. Hal ini dapat dilihat dengan nilai persen inhibisi ekstrak produk tanpa fermentasi kunyit yang lebih rendah dibandingkan nilai persen inhibisi ekstrak kunyit fermentasi. Hubungan antara meningkatnya konsentrasi dengan nilai % inhibisi adalah semakin tinggi lama fermentasi maka semakin tinggi nilai % inhibisi semakin meningkat. Pada gambar 1 dapat dibuktikan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin meningkat kapasitas antioksidannya dalam hal ini jamur *Aspergillus oryzae* memiliki kemampuan menghasilkan enzim  $\beta$ -glukosidase. Enzim  $\beta$ -glukosidase menghidrolisis isoflavon glikosida menjadi isoflavon aglikon. Transformasi glikosida isoflavon menjadi aglikon isoflavon yang berperan meningkatkan aktivitas antioksidan [8].

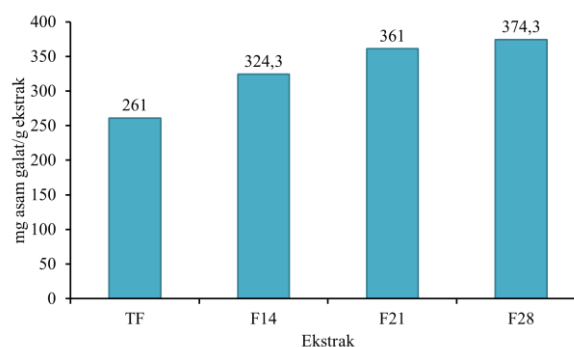
Peningkatan kapasitas antioksidan tersebut juga disebabkan oleh semakin banyaknya fenolik bebas yang dihasilkan dari proses fermentasi. Semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan maka semakin tinggi pula antioksidannya [9]. Besarnya peningkatan sifat-sifat antioksidan pada produk fermentasi tergantung dari mikroorganisme yang digunakan serta kondisi fermentasi itu sendiri [8].

#### Kadar Total Fenolat

Pengukuran kadar total fenolat dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa fenolat total pada ekstrak kunyit produk fermentasi dan tanpa fermentasi. Senyawa fenolat merupakan salah satu senyawa yang berperan dalam peningkatan kapasitas antioksidan dalam meredam radikal bebas. Pengukuran dilakukan menggunakan reagen *Folin-ciocalteu* dan sebagai standar digunakan asam galat. Reagen *Folin-ciocalteu* tidak spesifik artinya dapat mendeteksi semua grup fenolik yang terdapat dalam ekstrak, termasuk asam amino aromatik, sehingga diperkirakan adanya peningkatan fenolat bebas juga disebabkan adanya peningkatan aktivitas proteolisis [10]. Asam galat digunakan sebagai

standar karena asam galat merupakan bagian senyawa asam fenolat yang mempunyai tiga substituen gugus hidroksil pada cincin benzene, tersebar dalam banyak tumbuhan, dan senyawa ini cukup reaktif, sehingga senyawa ini banyak digunakan sebagai standar. Hasil dari pengukuran absorbansi sejumlah standar asam galat dengan seri konsentrasi 100-500 ppm diperoleh persamaan regresi  $y = 0,0003x + 0,0887$  dengan  $R^2 = 0,9878$ . Nilai ini menunjukkan bahwa absorbansi dengan konsentrasi sampel memberikan hubungan yang linier. Penentuan kadar total senyawa fenolat pada sampel ekstrak etanol kunyit ditentukan dengan memasukkan absorbansi sampel pada kurva kalibrasi. Nilai absorbansi yang terukur menyatakan intensitas senyawa fenolat yang terdapat dalam sampel. Semakin besar nilai absorbansi yang dihasilkan maka kandungan senyawa fenolat pada ekstrak tersebut semakin banyak.

Menurut Brewer [11], efektivitas sejumlah besar agen antioksidan umumnya sebanding dengan jumlah gugus hidroksil (OH) yang terdapat dalam cincin aromatik. Sebagian besar senyawa senyawa tersebut adalah senyawa fenolik. Uji total fenolat dilakukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan prinsip reaksi oksidasi. Prinsip metode *Folin-ciocalteu* adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil pada sampel oleh reagen *Folin-ciocalteu*. Uji total fenolat dinyatakan positif mengandung fenol yaitu ditandai dengan perubahan warna kuning total fenolat dari Mo (VI) menjadi Mo (V) berwarna biru [12]. Hasil pengukuran kadar total fenolat ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perbandingan total fenol ekstrak etanol kunyit tanpa fermentasi dan produk fermentasi dengan *Aspergillus oryzae*

Berdasarkan Gambar 2 menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi, kadar total senyawa fenolik semakin meningkat. Total fenol ekstrak kunyit produk fermentasi oleh *Aspergillus oryzae* selama 28 hari terukur lebih tinggi dibandingkan dengan yang tanpa fermentasi. Hal ini disebabkan kandungan senyawa fenolik terutama flavonoid pada kunyit yang difermentasi mengalami transformasi ke bentuk bebasnya disebut aglikon. proses fermentasi adalah proses yang cukup efektif dalam meningkatkan konsentrasi komponen fenolik serta mampu meningkatkan kualitas nutrisi dari komponen fenolik tersebut.

Secara umum peningkatan aktivitas antioksidan sebanding dengan peningkatan kadar total fenoliknya

bebas yang dihasilkan dari proses fermentasi. Semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan maka semakin tinggi antioksidannya [7].

#### Pengujian Senyawa Fitokimia

Pengujian senyawa fitokimia secara kualitatif dilakukan terhadap kunyit produk fermentasi dan tanpa fermentasi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui sejauh mana pengaruh fermentasi terhadap kandungan fitokimia dari kunyit. Pengujian fitokimia dilakukan menggunakan metode Harborne [6]. Hasil uji kandungan fitokimia secara kualitatif ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1: Hasil pengujian senyawa fitokimia secara kualitatif dari ekstrak etanol rimpang kunyit tanpa fermentasi dan dengan fermentasi oleh *Aspergillus oryzae*

Fitokimia	Hasil Uji			
	TF	F 14	F 21	F 28
Alkaloid	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+
Steroid	+	+	+	+

Kunyit mengandung senyawa fitokimia antara lain flavonoid dan turunannya, triterpenoid/steroid, alkaloid, tannin, dan kuinon. Pada penelitian ini, ekstrak etanol kunyit menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder kunyit tanpa fermentasi dan fermentasi seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, kuinon, dan steroid. Etanol yang digunakan untuk proses ekstraksi memiliki sifat polar, oleh karena itu tidak seluruh senyawa fitokimia terekstrak ke dalam pelarut ini.

Flavonoid teridentifikasi pada produk fermentasi dan tanpa fermentasi. Flavonoid pada produk fermentasi terindikasi kadarnya meningkat ditunjukkan berdasarkan perbedaan intensitas warna. Kehadiran flavonoid ini menjadi salah satu agen antioksidan pada produk fermentasi ini. Gugus hidroksil fungsional dalam flavonoid memberikan efek antioksidan dengan menangkalkan radikal bebas [13].

Teridentifikasinya tannin pada kunyit hasil fermentasi dikarenakan *Aspergillus oryzae* memproduksi enzim tannase (*tannin acyl hydrolase*) yang mendegradasi tannin pada kunyit. Enzim tannase yang biasa disebut sebagai enzim induksi ini diproduksi oleh ragi, bakteri, tanaman, dan terutama oleh jamur. Tannase mengkatalisis hidrolisis ester dan senyawa polifenol yang terdiri dari dua atau lebih aromatik monosiklik yang dihubungkan dengan ikatan ester seperti asam tanat, menghasilkan glukosa dan asam galat. Biotransformasi enzimatik kelompok tannin seperti katekin oleh tannase menghasilkan epigallocatekin dan asam galat yang dapat berpotensi sebagai antioksidan [13]. Tanin adalah senyawa fenolik polimer yang memiliki berat molekul besar. Tanin memiliki potensi

sebagai antioksidan. Potensi antioksidan dari tanin tergantung pada gugus hidroksil dan fenolik yang ada dan derajat hidroksilasi dari cincin aromatik.

Alkaloid dan saponin teridentifikasi pada produk fermentasi dan tanpa fermentasi. Kedua senyawa ini memiliki sifat fisika, kimia, dan biologi yang spesifik sehingga berpotensi sebagai obat. Kegunaan senyawa alkaloid dalam bidang farmakologi adalah untuk memacu sistem syaraf, melawan infeksi mikrobial, dan sebagai antioksidan karena alkaloid dapat berperan melawan radikal bebas. Adanya senyawa fitokimia saponin dan alkaloid pada tanaman menjadikan tanaman tersebut berperan sebagai antioksidan alami karena dapat mengikat radikal bebas.

Kuinon teridentifikasi pada kunyit produk fermentasi dan tanpa fermentasi. Kelompok benzokuinon (kuinon dengan kromofor yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap karbon-karbon), naftokuinon, dan antrakuinon biasanya terhidroksilasi dan bersifat senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan [6].

Steroid teridentifikasi pada kunyit produk fermentasi dan tanpa fermentasi senyawa steroid merupakan senyawa non polar yang bersifat hidrofobik dan masih dapat larut dalam alkohol, senyawa steroid tidak memiliki aktivitas antioksidan [6].

#### 4. Kesimpulan

Pada penelitian ini telah berhasil diperoleh produk fermentasi rimpang kunyit dengan *Aspergillus oryzae*. Produk fermentasi diperoleh dengan lama fermentasi 14, 21 dan 28 hari. Aktivitas antioksidan meningkat dengan lamanya fermentasi dengan nilai kapasitas antioksidan tanpa fermentasi dan dengan fermentasi selama 14, 21, dan 28 hari berturut-turut sebesar 17,0; 27,3; 33,3; dan 34,1 mg kuersetin/gram ekstrak. Total fenolat produk fermentasi berturut-turut sebesar 261; 324,3; 361; 374,3 mg asam galat/gram ekstrak. Ekstrak etanol produk fermentasi dan tanpa fermentasi seluruhnya positif mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, kuinon, dan steroid.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] M Karamac, R Amarowicz, Antioxidant activity of BHA, BHT and TBHQ examined with Miller's test, *Grasas y aceites*, 48, 2, (1997) 83-86 <http://dx.doi.org/10.3989/gya.1997.v48.i2.772>
- [2] Buyung Rukmantara Susena Putra, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah, Isolasi Senyawa Antioksidan dari Fraksi Etil Asetat Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 3, (2013) 69-72
- [3] Dita Widia Ningrum, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah, Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Senna siamea* Lamk), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20, 3, (2017) 123-129
- [4] I Kuncayono, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) terhadap 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH), *D-III*.

Yogyakarta: Teknologi Farmasi Fakultas Teknik Universitas Setia Budi, (2007)

- [5] Agustina Arpintasari, Wuryanti Wuryanti, Wasino Hadi Rahmanto, Isolasi dan Uji Potensi L-Asparaginase dari Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Vall) terhadap Leukimia Tipe K562, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 11, 3, (2008) 57-62
- [6] Jeffrey Barry Harborne, Metode fitokimia, Padmawinata K, S. I, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 1987.
- [7] Philip Molyneux, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26, 2, (2004) 211-219
- [8] E Berghofer, B Grzeskowiak, N Mundigler, WB Sentall, J Walcak, Antioxidative properties of faba bean-, soybean- and oat tempeh, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 49, 1, (1998) 45-54
- [9] Linghong Liang, Xiangyang Wu, Ting Zhao, Jiangli Zhao, Fang Li, Ye Zou, Guanghua Mao, Liuqing Yang, In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastrointestinal digestion, *Food Research International*, 46, 1, (2012) 76-82  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.024>
- [10] AA Prabhu, CM Mrudula, J Rajesh, Effect of yeast fermentation on nutraceutical and antioxidant properties of rice bran, *Int J Agric Food Sci*, 4, (2014) 59-65
- [11] MS Brewer, Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10, 4, (2011) 221-247
- [12] Dejian Huang, Boxin Ou, Ronald L Prior, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 6, (2005) 1841-1856 <http://dx.doi.org/10.1021/jf030723c>
- [13] V. Bondet, W. Brand-Williams, C. Berset, Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH.Free Radical Method, *LWT - Food Science and Technology*, 30, 6, (1997) 609-615  
<http://dx.doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>



## Blue Methylene Retrieval using Silica-Salicylic Acid Modified Filtering

Desriana Chrisyanti<sup>a</sup>, Gunawan<sup>a\*</sup>, Abdul Haris<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Analytical Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [gunawan@live.undip.ac.id](mailto:gunawan@live.undip.ac.id)

### Article Info

Keywords:  
methylene blue,  
silica, salicylic acid

Kata Kunci:  
Metilen biru, silika,  
asam salisilat

### Abstract

The retrieval of methylene blue using a silica-modified sulfide-salicylic acid has been carried out. Salicylate-silica-acid alloys have been prepared by comparing the four media ie filter paper, silica-filter paper, salicylic acid-filter paper and salicylic acid-silica-filter paper. This study aims to study the recovery of methylene blue using salicylic acid-modified silica filtering with various parameters on the adsorption and desorption process. The results showed that the salicylic acid-silica alloy could improve the capability of methylene blue removal. The result of pH variation on the adsorption process showed that at pH 7 methylene blue can be taken 92.89%. Whereas at concentration variation, salicylic acid at 5 mM can take methylene blue equal to 92.86%. The desorption results showed that pH 1 methylene blue could be desorbed at 308.89 mg/g, while the variation of contact time of desorption ie at 110 minutes could an saturate the blue methylene by 589,61 mg/g. The UV-Vis analysis showed a decrease in absorbance in salicylic acid after contact with silica. The FTIR analysis also shows that in salicylate-silica-acid alloys there are Si-O groups derived from silica and C = O derived from salicylic acid.

### Abstrak

Pengambilan metilen biru menggunakan penyaringan termodifikasi silika-asam salisilat telah dilakukan dengan membuat paduan silika-asam salisilat dan membandingkan keempat media yaitu kertas saring, kertas saring-silika, kertas saring-asam salisilat dan kertas saring-silika-asam salisilat. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengambilan metilen biru menggunakan penyaringan termodifikasi silika-asam salisilat dengan berbagai parameter pada proses adsorpsi dan desorpsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paduan silika-asam salisilat dapat meningkatkan kemampuan pengambilan metilen biru. Hasil variasi pH pada proses adsorpsi menunjukkan bahwa pada pH 7 metilen biru dapat terambil 92,89%, sedangkan variasi konsentrasi asam salisilat pada 5 mM dapat mengambil metilen biru sebesar 92,86%. Hasil desorpsi menunjukkan pada pH 1 metilen biru dapat terdesorpsi sebesar 308,89 mg/g, sedangkan variasi waktu kontak desorpsi yaitu pada waktu 110 menit dapat mendesorpsi metilen biru sebesar 589,61 mg/g. Hasil analisis UV-Vis menunjukkan adanya penurunan absorbansi pada asam salisilat setelah kontak dengan silika. Hasil analisis FTIR juga menunjukkan pada paduan silika-asam salisilat terdapat gugus Si-O yang berasal dari silika dan C=O yang berasal dari asam salisilat.

## 1. Pendahuluan

Industri tekstil merupakan salah satu industri yang berkembang begitu pesat di Indonesia. Salah satu kegiatan dalam proses industri tekstil adalah proses pewarnaan [1, 2]. Metilen biru merupakan salah satu zat warna kation yang sering digunakan pada pencelupan kapas, kayu dan sutra [3]. Paparan akut metilen biru dapat menyebabkan beberapa efek berbahaya yaitu menyebabkan peningkatan denyut jantung, muntah, sianosis, ikterus dan nekrosis [4]. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengolahan terhadap limbah metilen biru.

Salah satu pengolahan limbah metilen biru dengan menggunakan adsorben. Silika dikenal sebagai adsorben yang mampu mengadsorp antara lain ion logam dan zat warna. Berdasarkan penelitian Han *dkk.* [5] metilen biru teradsorpsi 90% dengan menggunakan silika. Selain penggunaan adsorben, ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode pengambilan metilen biru [6]. Ekstraksi cair-cair menggunakan ekstrak sebagai *carrier* dalam proses ekstraksi yang berikatan dengan pelarut organik, sehingga zat warna dapat digunakan kembali. Penelitian El-Ashtouky dan Fouad [3] menggunakan ekstrak sodium dodesilbenzena sulfonat yang dapat mengambil metilen biru sebesar 93,65%. Ekstraktan lain yang digunakan untuk pengambilan metilen biru adalah asam salisilat. Asam salisilat dapat mengambil metilen biru lebih dari 93%. Berdasarkan beberapa penelitian diatas, penelitian ini akan dilakukan dengan memadukan silika dan salisilat untuk mempelajari pengambilan metilen biru dengan penyaringan termodifikasi asam salisilat dengan berbagai parameter.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah peralatan gelas laboratorium, magnetic stirrer, pH universal, kertas saring halus, Neraca analitik (Mettler-200), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu) dan Fourier Transform Infra Red (FTIR) shimadzu prestige 21. Bahan yang digunakan adalah metilen biru (Merck), asam salisilat (Merck), silika G60 (Merck), HCl 37%, NaOH (Merck) dan akuades.

### Pengambilan Metilen Biru

Pengambilan metilen biru dilakukan dengan membandingkan empat macam media yaitu kertas saring, kerta saring-silika, kertas saring-asam salisilat dan kertas saring-silika-asam salisilat.

### Pembuatan Paduan Silika- Asam Salisilat

Silika sebanyak 5 mg diratakan di atas kertas saring, kemudian dialirkan asam salisilat ke atas kertas saring yang telah dilapisi silika.

### Studi Adsorpsi

Studi adsorpsi meliputi variasi pH, variasi konsentrasi asam salisilat dan variasi konsentrasi metilen biru. Filtrat hasil penyaringan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sedangkan

silika-asam salisilat diatas kertas saring dikeringkan untuk dilanjutkan pada proses desorpsi

### Studi Desorpsi

Studi desorpsi meliputi variasi pH dan waktu kontak. Proses desorpsi menggunakan silika-asam salisilat hasil adsorpsi yang dimasukkan ke dalam cawan petri dengan variasi pH dan waktu kontak. Hasil desorpsi didekantasi untuk selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### Karakterisasi Paduan Silika-Asam Salisilat

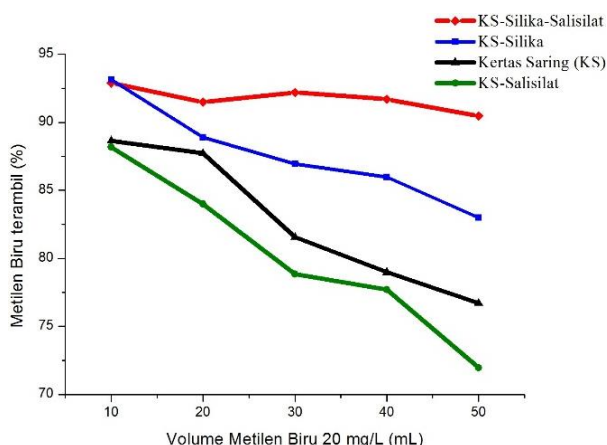
Filtrat dari asam salisilat yang menetes setelah kontak dengan silika serta hasil desorpsi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sedangkan hasil lapisan silika-asam salisilat di atas kertas saring sebelum adsorpsi dan setelah adsorpsi dikeringkan untuk dianalisis dengan menggunakan FTIR.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### Pengambilan Metilen Biru

Pengambilan metilen biru membandingkan empat media yaitu kertas saring, kertas saring-silika, kertas aring-asam salisilat dan kertas saring-silika-asam salisilat. Perbandingan empat macam media ini bertujuan untuk melihat kemampuan yang paling baik dalam pengambilan metilen biru.

Berdasarkan gambar 1 paduan silika-asam salisilat dapat mengambil metilen biru lebih banyak dibandingkan ketiga media lainnya. Pengambilan metilen biru pada kertas saring-silika-asam salisilat memiliki selisih sebesar 13,3% dengan menggunakan kertas saring saja, sedangkan dengan penambahan asam salisilat sebesar 17,66 % dan kertas saring-silika sebesar 7,52%. Selisih metilen biru yang teradsorpsi menunjukkan adanya peningkatan kemampuan adsorpsi dengan penggunaan silika dan asam salisilat untuk adsorpsi metilen biru. Pengambilan metilen biru dengan berbagai cara seperti pada gambar 1 menunjukkan pengambilan metilen biru dengan menggunakan kertas saring-silika-asam salisilat paling baik untuk pengambilan metilen biru. Paduan kertas saring-silika-asam salisilat digunakan untuk pengambilan metilen biru dengan berbagai parameter.

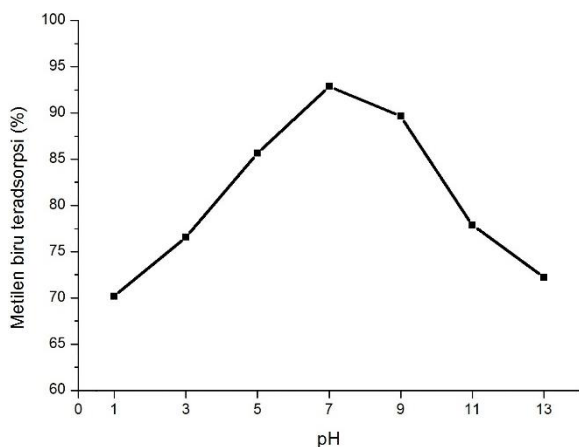


Gambar 1. Pengaruh volume metilen biru 20 mgL<sup>-1</sup> terhadap persentase metilen biru yang terambil

**Studi Adsorpsi metilen biru dengan kertas saring-silika-asam salisilat**

**Variasi pH**

Variasi pH bertujuan untuk melihat pengaruh pH dalam pengambilan metilen biru.

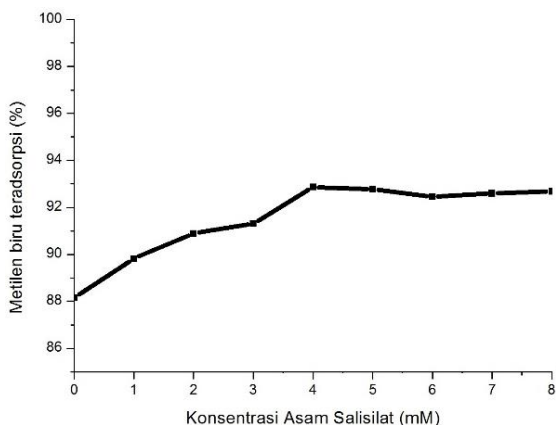


Gambar 2. Pengaruh pH terhadap persentase metilen biru yang teradsorpsi

Kemampuan adsorpsi metilen biru menurun pada pH lebih dari 7 seperti terlihat pada gambar 2. Pengambilan metilen biru paling tinggi yaitu sebesar 92,89% pada pH 7 hal ini dikarenakan pada pH netral metilen biru dapat dengan mudah berikatan dengan asam salisilat. Penurunan metilen biru yang terambil disebabkan adanya H<sup>+</sup> pada pH asam mengakibatkan persaingan antara ion H<sup>+</sup> dari asam dengan muatan positif dari metilen biru untuk berikatan, sedangkan penurunan metilen biru yang terambil pada kondisi basa disebabkan adanya OH<sup>-</sup> dan gugus COO<sup>-</sup> dari asam salisilat yang menyebabkan adanya kompetisi untuk berikatan dengan metilen biru [7].

**Variasi Konsentrasi Asam Salisilat**

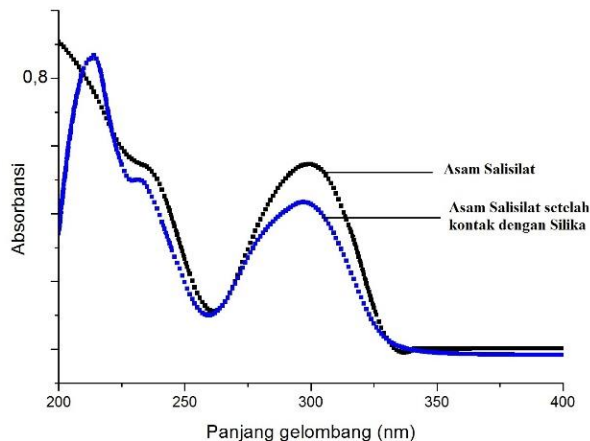
Konsentrasi asam salisilat yang digunakan yaitu 0-8 mM. Asam salisilat memiliki gugus aktif COO<sup>-</sup> sehingga asam salisilat dapat berikatan dengan metilen biru yang bersifat kation. Gambar 3 menunjukkan adsorpsi tertinggi metilen biru yaitu pada konsentrasi asam salisilat 5 mM metilen biru dapat teradsorpsi 92,89%.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi asam salisilat terhadap persentase metilen biru teradsorpsi

Asam salisilat dan metilen biru akan mengalami interaksi elektrostatis diantara dua muatan yang berlawanan antara kation metilen biru dengan anion yang berasal dari asam salisilat [8].

Untuk melihat asam salisilat telah terikat pada silika dilakukan pengujian spektra UV-Vis dari asam salisilat sebelum dan sesudah kontak dengan silika.

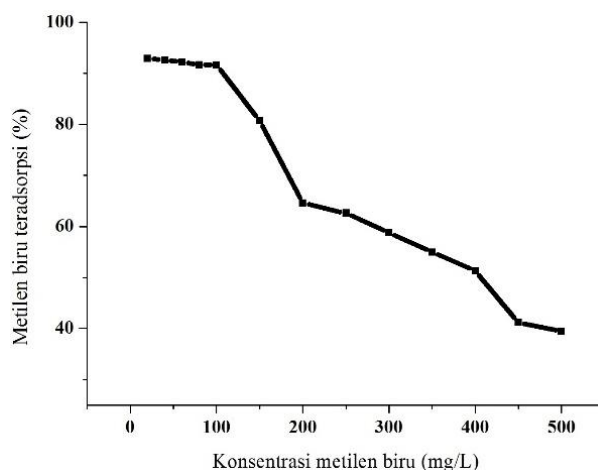


Gambar 4. Spektra UV-Vis asam salisilat dan asam salisilat setelah kontak dengan silika

Penurunan absorbansi seperti pada gambar 4 menunjukkan penurunan konsentrasi asam salisilat setelah kontak dengan silika, hal ini menunjukkan adanya asam salisilat yang tertinggal di silika, sehingga dapat dipastikan di permukaan silika terdapat asam salisilat.

**Variasi Konsentrasi Metilen Biru**

Variasi konsentrasi metilen biru bertujuan untuk melihat kemampuan pengambilan metilen biru dengan paduan silika-asam salisilat dalam kertas saring. Selain itu, variasi konsentrasi metilen biru bertujuan untuk melihat kapasitas adsorpsi maksimum dari adsorben.



Gambar 5. Pengaruh variasi konsentrasi metilen biru terhadap persentase metilen biru yang teradsorpsi

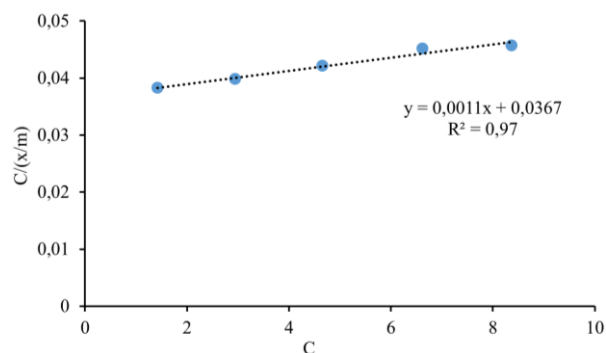
Gambar 5 menunjukkan metilen biru teradsorpsi paling tinggi pada konsentrasi 20 mgL<sup>-1</sup> yaitu sebesar 92,89%. Variasi konsentrasi metilen biru 20, 40, 60, 80 dan 100 mgL<sup>-1</sup> dapat mengadsorpsi metilen biru lebih dari 90%, sedangkan pada konsentrasi metilen biru



lebih dari 100 mgL<sup>-1</sup> metilen biru mengalami penurunan adsorpsi.

**Isoterm Adsorpsi**

Isoterm adsorpsi paduan silika-asam salisilat diasumsikan mengikuti pola isoterm Langmuir. Isoterm Langmuir diperoleh dengan membuat kurva  $c/(x/m)$  terhadap  $c/(x/m)$  sehingga diperoleh slope  $1/(x/m)_{max}$  dan intersept yaitu  $1/(x/m)_{max} \cdot a$  seperti pada gambar 6.

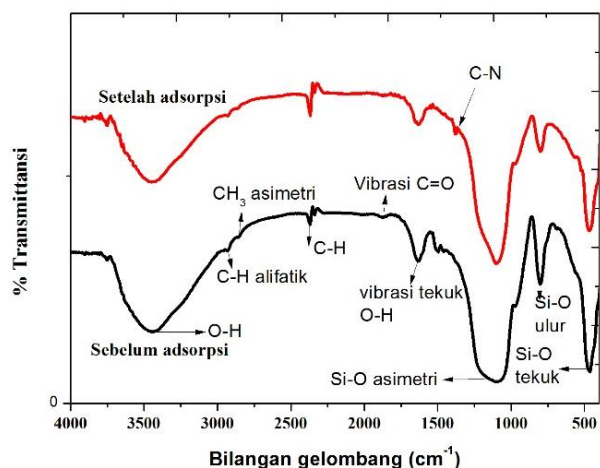


Gambar 6. Isoterm adsorpsi Langmuir me-tilen biru dengan paduan silika-asam salisilat

Kapasitas adsorpsi maksimum sebesar 909,09 mg/g yang menunjukkan jumlah maksimum metilen biru yang dapat teradsorpsi pada paduan silika-asam salisilat sebesar 909,09 mg/g. Nilai a sebesar 0,02 dan koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,97. Model isoterm Langmuir membentuk lapisan monolayer yang menunjukkan bahwa situs aktif pada adsorben hanya dapat mengadsorpsi satu molekul adsorbat saja [9].

**Analisis FTIR**

Hasil analisis FT-IR menunjukkan adanya silika dan asam salisilat yang ditunjukkan dengan gugus fungsi pada bilangan gelombang tertentu.



Gambar 7. Hasil analisis FTIR sebelum adsorpsi dan setelah adsorpsi

Pita serapan 470,63 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi tekuk Si-O-Si, pita serapan 802,39 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi ulur simetri Si-O, pita serapan 1103,28 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi ulur asimetri Si-O, pita serapan 1381,71 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi C-N, pita serapan 1635,34 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya vibrasi tekuk OH, pita

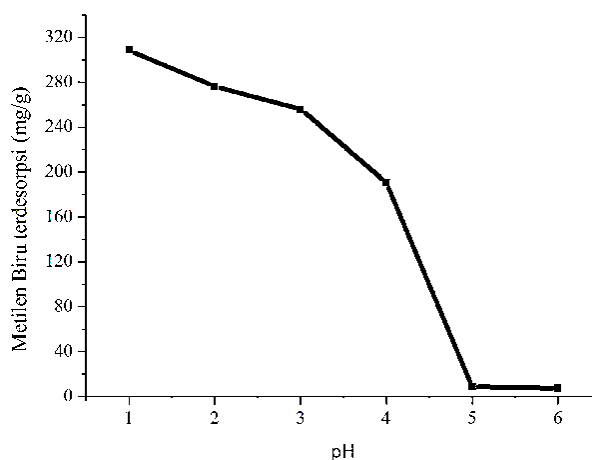
serapan 1851,66 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya vibrasi C=O, pita serapan pita serapan 2368,59 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya vibrasi C-H , pita serapan 2862,36 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya CH<sub>3</sub> asimetri, pita serapan 2931,80 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya C-H alifatik, pita serapan 3417,86 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya vibrasi OH dari silanol [10].

Spektra FTIR pada Gambar 7 setelah adsorpsi menunjukkan adanya serapan baru pada bilangan gelombang 1381,71 cm<sup>-1</sup> yang berasal dari vibrasi C-N metilen biru.

**Studi Desorpsi**

**Variasi pH**

Hasil desorpsi pH 1-6 berturut-turut sebesar 308,59; 276,37; 256,08; 190,45; 8,82, dan 7,2 mg/g.

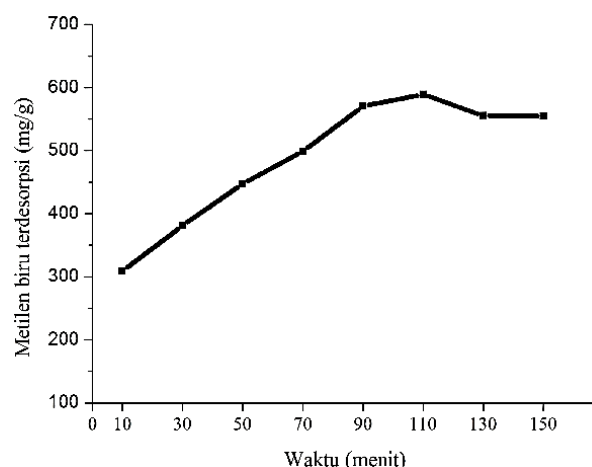


Gambar 8. Pengaruh pH terhadap metilen biru yang terdesorpsi

Gambar 8 menunjukkan bahwa sema-kin rendah pH atau semakin asam maka metilen biru yang terdesorpsi akan semakin besar.

**Variasi Waktu Desorpsi**

Waktu desorpsi yang digunakan yaitu 10-150 menit dengan menggunakan HCl sebagai agen pendesor.



Gambar 9. Pengaruh waktu kontak terhadap metilen biru yang terdesorpsi

Gambar 9 menunjukkan kemampuan desorpsi menurun pada waktu lebih dari 110 menit dimungkinkan tidak terjadi lagi kesetimbangan sehingga H<sup>+</sup> yang terikat pada adsorben terlepas kembali [11].

#### 4. Kesimpulan

Paduan silika-asam salisilat dapat menaikkan persentase adsorpsi metilen biru, hasil adsorpsi menunjukkan pada pH 7 metilen biru teradsorpsi paling besar yaitu 92,89 %, sedangkan variasi konsentrasi asam salisilat yang paling baik untuk pengambilan metilen biru yaitu pada 5 mM dan variasi konsentrasi metilen biru menunjukkan semakin banyak partikel adsorbat maka persentase metilen biru teradsorpsi semakin menurun. Hasil desorpsi menunjukkan pada pH 1 mampu mendesorpsi hingga 308,9 mg/g, sedangkan pada waktu kontak 110 menit desorpsi maksimum metilen biru sebesar 589,61 mg/g.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Sulistias Mustika, Abdul Haris, Nor Basid Adiwibawa Prasetya, Kajian Metode Elektrofotokatalisis, Elektrolisis dan Fotokatalisis pada Dekolorisasi Larutan Zat Warna Remazol Black B yang Mengandung Ion Logam Cu<sup>2+</sup>, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 1, (2013) 17-22
- [2] Arthias Cita Febriyani, Rum Hastuti, Abdul Haris, Kajian Metode Elektrofotokatalisis, Elektrolisis dan Fotokatalisis pada Dekolorisasi Larutan Zat Warna Remazol Brilliant Orange 3R yang Mengandung Ion Logam Cu<sup>2+</sup>, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15, 1, (2012) 7-12
- [3] E.-S.Z. El-Ashtoukhy, Y.O Fouad, Liquid-liquid extraction of methylene blue dye from aqueous solutions using sodium dodecylbenzenesulfonate as an extractant, *Alexandria Engineering Journal*, 54, (2015) 77-81 [10.1016/j.aej.2014.11.007](http://dx.doi.org/10.1016/j.aej.2014.11.007)
- [4] Reza S. Razmara, Ali Daneshfar, Reza Sahrai, Determination of methylene blue and sunset yellow in wastewater and food samples using salting-out assisted liquid-liquid extraction, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 17, 3, (2011) 533-536 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2010.10.028>
- [5] Hekun Han, Wei Wei, Zhifeng Jiang, Junwei Lu, Jianjun Zhu, Jimin Xie, Removal of cationic dyes from aqueous solution by adsorption onto hydrophobic/hydrophilic silica aerogel, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 509, Supplement C, (2016) 539-549 <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.09.056>
- [6] W. H. Rahmanto, Muhammad Asy'ari, Sel Elektrolisis 3-Kompartemen untuk Ekstraksi Magnesium dan Sulfat dari Sistem Larutan MgSO<sub>4</sub>-KCl-H<sub>2</sub>O, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 9, 1, (2006)
- [7] M. Soniya, G. Muthuraman, Comparative study between liquid-liquid extraction and bulk liquid membrane for the removal and recovery of methylene blue from wastewater, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 30, (2015) 266-273 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2015.05.032>
- [8] Reza Hosseinzadeh, Khatereh Khorsandi, Maryam Jahanshiri, Combination photodynamic therapy of human breast cancer using salicylic acid and methylene blue, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 184, Supplement C, (2017) 198-203 <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.008>
- [9] Yasemin Bulut, Haluk Aydın, A kinetics and thermodynamics study of methylene blue adsorption on wheat shells, *Desalination*, 194, 1, (2006) 259-267 <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2005.10.032>
- [10] Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David J. Kiemle, David L. Bryce, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5 ed., John Wiley and Sons Inc., New York, 1991.
- [11] Shofi Dwika Adha, Danar Purwonugroho, Rachmat Triandi Tjahjanto, Pengaruh Konsentrasi Larutan HNO<sub>3</sub> dan Waktu Kontak Terhadap Desorpsi Kadmium(II) yang Terikat Pada Biomassa Azolla Microphylla-Sitrat, *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1, 1, (2015) 636-642



## Synthesis of Zeolite from Sugar Cane as Detergent Builder: Variation of Si/Al Ratio and Hydrothermal Time

Arnelli <sup>a\*</sup>, Noor Afifah <sup>a</sup>, Narita Rizki <sup>a</sup>, Tri Windarti <sup>a</sup>, Yayuk Astuti <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Physical Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [arnelli@live.undip.ac.id](mailto:arnelli@live.undip.ac.id)

### Article Info

Keywords:  
 Synthetic zeolite,  
 builder, detergent

Kata Kunci:  
 Zeolit sintetik,  
 builder, detergen

### Abstract

Synthesis of zeolite from bagasse with variation of Si / Al ratio (1,2,1,4,1,6 and 1,8) with ZS1-ZS5 code and hydrothermal time (160, 190, 250, 340, and 460 minutes) with sample code ZSa - ZSe has been conducted. The synthesized zeolite was then applied to the detergent builder. The detergent builder of synthetic zeolite was used as a substitute for sodium tripolyphosphate, which is not environmentally friendly as it can lead to eutrophication. One of the detergent builder functions is to improve the washing efficiency of the surfactant by inactivating water-absorbing minerals (Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> ions) which may further deter the detergency process. Zeolites were synthesized using a sol-gel method followed by a hydrothermal process. The material used in this synthesis is Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> (aq) (derived from bagasse) mixed with NaAl(OH)<sub>4</sub> (aq), then stirred to form a white gel and continued by heating using autoclave at 100°C. The results obtained are zeolite-A and zeolite-X for variation of Si/Al ratio and hydrothermal time variation, with CEC value and detergency proportional to Si/Al ratio and hydrothermal time.

### Abstrak

Sintesis zeolit dari ampas tebu dengan variasi rasio Si/Al (1; 1,2; 1,4; 1,6; dan 1,8) dengan kode ZS1-ZS5 dan waktu hidrotermal (160, 190, 250, 340, dan 460 menit) dengan kode sampel ZSa - ZSe telah dilakukan. Zeolit hasil sintesis selanjutnya diaplikasikan untuk builder detergen. Builder detergen dari zeolit sintesis digunakan sebagai pengganti natrium tripoli fosfat, yang tidak ramah lingkungan karena dapat mengakibatkan eutrofikasi. Salah satu fungsi builder pada detergen adalah meningkatkan efisiensi pencuci dari surfaktan dengan cara menonaktifkan mineral yang penyebab kesadahan air (ion Ca<sup>2+</sup> dan Mg<sup>2+</sup>) yang selanjutnya dapat menghalangi proses detergen. Zeolit disintesis menggunakan metode sol-gel yang dilanjutkan dengan proses hidrotermal. Bahan yang digunakan dalam sintesis ini yaitu Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>(aq) (berasal dari ampas tebu) yang dicampur dengan NaAl(OH)<sub>4</sub>(aq), kemudian diaduk hingga membentuk gel putih dan dilanjutkan dengan pemanasan menggunakan autoclave pada suhu 100°C. Hasil yang diperoleh berupa zeolit-A dan zeolit-X untuk variasi ratio Si/Al dan variasi waktu hidrotermal, dengan nilai KTK dan detergeni berbanding lurus dengan rasio Si/Al dan waktu hidrotermal.

### 1. Pendahuluan

Tebu (*Saccharum officinarum* L) merupakan tanaman yang dimanfaatkan niranya untuk pembuatan gula. Kandungan nira dalam tebu hanya 10% sedangkan sisanya berupa ampas tebu (90%). Selama ini ampas

tebu digunakan sebagai bahan bakar pada pabrik gula dan meninggalkan sisa abu yang kurang dimanfaatkan. Abu ampas tebu memiliki kandungan silika yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber silika dalam sintesis zeolit. Zeolit memiliki kemampuan

pertukaran kation yang dimanfaatkan sebagai builder pada industri deterjen, builder pada detergen berfungsi meningkatkan efisiensi pencucian [1, 2].

Zeolit mengandung kation-kation untuk menstabilkan muatan zeolit serta sejumlah molekul air dan memiliki kemampuan melakukan pertukaran kation [3, 4]. Kation-kation tersebut dapat dipertukarkan dengan kation lain, kemampuan inilah yang banyak dimanfaatkan di industri, salah satunya pada industri deterjen, fungsi builder diantaranya menurunkan kesadahan air dengan cara pertukaran ion natrium dari zeolit dengan ion lain penyebab kesadahan air (ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$ ) yang dapat menghalangi proses detergensi [5]. Zeolit X dan zeolit A memiliki daya tukar kation yang maksimum sehingga dapat diaplikasikan sebagai adsorben, penukar ion dan khususnya builder deterjen [6].

Rasio  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  pada zeolit menentukan ukuran kristal serta morfologi kristal zeolit yang dihasilkan [7]. Purnomo *dkk.* [8] telah berhasil mensintesis zeolit Na-A dan Na-X dari abu ampas tebu dimana pengaruh rasio Si/Al pada sintesis zeolit ini mempengaruhi lama waktu dari pembentukan inti kristal serta jenis kristal yang dihasilkan. Shirazi *dkk.* [9] menyatakan bahwa setiap zeolit memiliki kekhasan pada rasio Si/Al, meningkatnya rasio akan berpengaruh terhadap ukuran kristal dan luas permukaan dari zeolit yang terbentuk.

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis zeolit dari abu ampas tebu dengan variasi  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  dan waktu hidrotermal terhadap jenis mineral dan ukuran bulir dari zeolit sintetis dan zeolit sintetis diaplikasikan untuk builder pada deterjensi Sodium Lauryl Sulfate (SLS).

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat-alat gelas, alat hidrotermal, X-Ray Diffractometer (XRD) Shimadzu X-2000. Natrium hidroksida (Merck), sekam padi,  $\text{Al}(\text{OH})_3$  (Merck), aquades, aquabides,

### Cara kerja

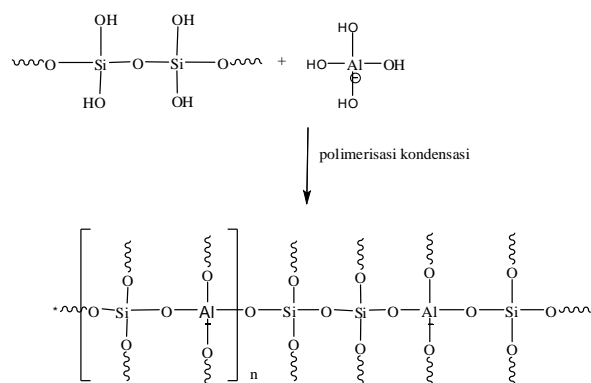
Zeolit disintesis dengan menggunakan metode Sol-Gel yang dilanjutkan dengan proses Hidrotermal. Bahan yang digunakan dalam sintesis ini yaitu  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (aq) yang dicampur dengan  $\text{NaAl}(\text{OH})_4$  (aq), kemudian diaduk hingga membentuk gel putih dan dilanjutkan dengan pemanasan menggunakan autoclave pada suhu  $100^\circ\text{C}$  yang bervariasi selama 160, 190, 250, 340, dan 460 menit dengan kode sampel ZSa - ZSe. Variasi ratio Si/Al dibuat 1; 1,2; 1,4; 1,6; dan 1,8 dengan kode ZS1-ZS5.  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (aq) diperoleh dari hasil reaksi fusi (peleburan) abu yang dicampur dengan NaOH pada  $500^\circ\text{C}$  selama 1jam, produk yang diperoleh digerus hingga halus sampai tercampur rata kemudian dilarutkan ke dalam aquades dan didiamkan selama 24jam lalu diambil filtratnya.  $\text{NaAl}(\text{OH})_4$  (aq) diperoleh dari reaksi antara NaOH dengan  $\text{Al}(\text{OH})_3$ . Zeolit yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan XRD untuk mengetahui jenis mineral yang terbentuk, nilai KTK, kemudian zeolit sintesis diaplikasikan sebagai builder pada deterjensi

surfaktan SLS dengan pembanding Sodium TriPolyPhosphate (STPP).

## 3. Hasil dan Pembahasan

Pembentukan zeolit dimulai dari mereaksikan  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (aq) dan  $\text{NaAl}(\text{OH})_4$  (aq), proses pembentukan zeolit diawali dengan terbentuknya fase meta stabil yaitu pembentukan gel berwarna putih yang kemudian terjadi perpindahan atau migrasi ion dan diakhiri fase stabil atau terbentuknya kristal zeolit [10]. Anion silikat ( $\text{SiO}_4^-$ ) bereaksi cepat dengan  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$  membentuk senyawa aluminosilikat terutama sodalit ( $\text{Na}_4\text{Al}_3\text{O}_{12}\text{OH}$ ), dimana sodalit merupakan mineral pembentuk zeolit A. Pada larutan alkali, aluminium memberikan muatan negatif  $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$  tetrahedral, selama perlakuan hidrotermal struktur yang lain bergabung membentuk kerangka zeolit [11].

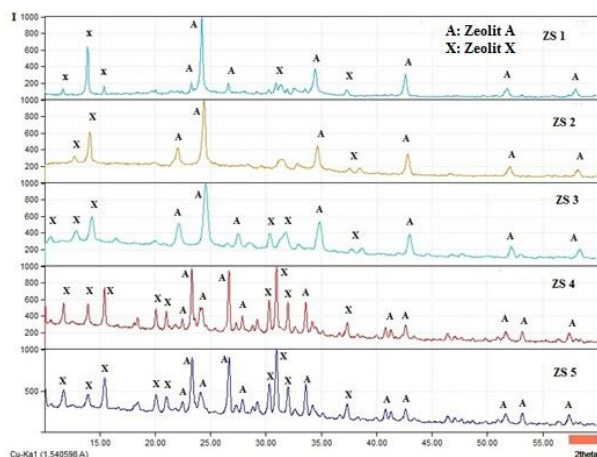
Gel amorf terlarut akan mengalami penataan ulang strukturnya yang disebabkan oleh pemanasan untuk membentuk fase yang merupakan embrio inti kristal pada tahap pembentukan kristal. Pada tahap pertumbuhan kristal, gel amorf perlahan membentuk embrio inti kristal kemudian terjadi pertumbuhan kristal sampai gel amorf habis dan terbentuk kristal dalam keadaan stabil. Reaksi pembentukan polimer zeolit digambarkan sebagai berikut:



Gambar 1. Reaksi pembentukan polimer zeolit

### Karakterisasi dengan XRD: Variasi rasio Si/Al

Data yang diperoleh dari XRD berupa intensitas, sudut ( $2\theta$ ), dan jarak antar bidang ( $d$ ) yang dapat digunakan untuk menentukan jenis mineral zeolit dengan membandingkan data dari pola difraksi sinar-X JCPDS-ICDD. Data JCPDS-ICDD yang digunakan meliputi nomor 12-0246 (zeolit X (Na)/  $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_2.4\text{O}_{8.86.7}\text{H}_2\text{O}$ ), dan nomor 39-0222 (zeolit A (Na)/  $\text{Na}_9\text{Al}_9\text{Si}_9\text{O}_{38.4216}\text{H}_2\text{O}$ ). Berikut difraktogram zeolit sintesis:



Gambar 2. Difraktogram Lima Variasi Zeolit Hasil Sintetik

Gambar 2 menunjukkan hasil analisa XRD pada kelima sampel zeolit sintetik dengan keterangan A dan X pada puncak XRD berturut-turut merupakan jenis mineral zeolit yang terbentuk yaitu zeolit A dan zeolit X dengan kation penyeimbang natrium (Na). Pola difraktogram pada ZS1 hingga ZS3 hampir sama dengan intensitas tertinggi muncul pada daerah  $2\theta : 24,19^\circ$  namun pada ZS4 dan ZS5 terjadi pergeseran intensitas tertinggi yang muncul pada daerah  $2\theta : 30,94^\circ$  hal ini karena bidang kristal yang terbentuk pada  $2\theta : 24,19^\circ$  runtuh kemudian membentuk bidang baru pada daerah  $2\theta : 30,94^\circ$ . Jumlah puncak utama pada tiap variasi zeolit mengalami kenaikan. Hal ini ditunjukkan pada ZS1 memiliki puncak utama berjumlah 3, ZS2 berjumlah 4, ZS3 berjumlah 5 dan ZS4 serta ZS5 berjumlah 7. Puncak yang selalu ada pada hasil variasi berada pada  $2\theta$  sekitar 14 dan 24. Puncak baru pada ZS4 dan ZS5 muncul pada daerah  $2\theta : 23,26; 26,64$  hingga  $32,1$ . Tabel berikut menunjukkan adanya mineral yang hilang berdasarkan perubahan intensitas relatif pada hasil zeolit.

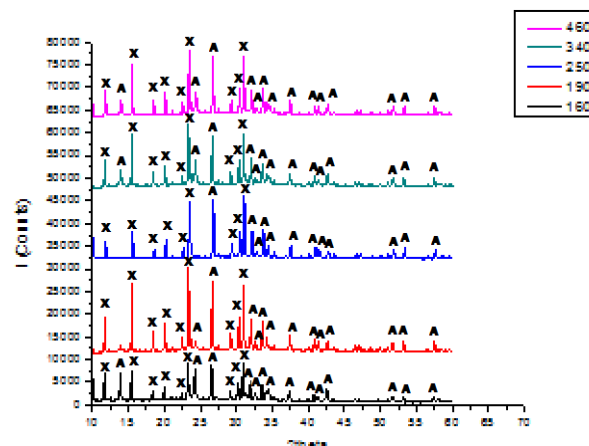
Tabel 1: Perubahan Intensitas Relatif pada Zeolit Hasil

$2\theta$	$d (\text{\AA})$	% Intensitas Relatif					Jenis Zeolit
		ZS1	ZS2	ZS3	ZS4	ZS5	
23,26	3,8196	14	-	-	-	-	A
23,29	3,8148	-	-	-	91	-	A
23,43	3,7923	-	-	-	-	80	A
26,60	3,3471	15	-	-	-	-	A
26,64	3,3422	-	-	-	89	-	A
26,76	3,3274	-	-	-	-	84	A
30,26	2,95	-	-	-	49	-	X
30,35	2,9415	-	-	41	-	-	X
30,40	2,9368	-	-	-	-	47	X
30,89	2,8913	14	-	-	-	-	X
30,94	2,8868	-	-	-	100	-	X
31,06	2,8759	-	-	-	-	100	X
31,76	2,8141	-	-	12	-	-	X
31,98	2,7952	-	-	-	48	-	X
32,1	2,7850	-	-	-	-	44	X

Berdasarkan tabel 2 diketahui bahwa jarak antar bidang (d) semakin kecil mengikuti pergeseran puncak difraktogram ke arah  $2\theta$  yang lebih tinggi. Hal ini

disebabkan adanya penggantian ikatan Al-O ( $1,69\text{\AA}$ ) dengan ikatan yang lebih pendek Si-O ( $1,61\text{\AA}$ ) sehingga terjadi perubahan panjang kerangka pada zeolit yang mengakibatkan unit sel mengkerut [12].

Karakterisasi XRD; Variasi waktu hidrotermal



Gambar 3. Difraktogram Lima Variasi Zeolit Hasil Sintetik

Berdasarkan gambar 3 terlihat pola difraktogram keseluruhan variasi waktu hidrotermal sama dan pada intensitas yang sering muncul tertinggi memiliki perbedaan yaitu dari nilai FWHM puncak-puncaknya yang berfluktuasi. Jenis mineral yang terbentuk adalah zeolit A dan zeolit X dengan kation penyeimbang  $\text{Na}^+$ . Secara umum pola difraktogram (gambar 3) hampir sama. Perubahan dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2: Perubahan Intensitas Relatif

$2\theta$ ( $^\circ$ )	Intensitas Relatif (%)					Jenis Zeolit	FWHM
	160menit	190menit	250menit	340menit	460menit		
13,88386	-	-	-	29,3992	-	A	0,18098
13,91915	74,849	-	-	-	-	A	0,13104
13,95898	-	-	-	-	24,9384	A	0,16995
24,19551	-	-	-	44,3365	-	A	0,22844
24,20416	-	14,2812	-	-	-	A	0,19737
24,21789	82,8408	-	-	-	-	A	0,22751
24,27406	-	-	-	-	36,4018	A	0,23243

Beberapa perubahan ini terjadi pada zeolit tipe A, sedangkan untuk zeolit X hampir sering muncul pada setiap sudut. Untuk mensintesis zeolit dengan kadar Si rendah misal zeolit A akan diikuti dengan terbentuknya zeolit Si rendah lain yaitu zeolit X [8].

Nilai Kapasitas Tukar Kation (KTK)

Kapasitas tukar kation (KTK) adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan zeolit dalam pertukaran kation. Banyaknya kation (dalam miliek4alen) yang dapat dijerap oleh zeolit per satuan berat zeolit (per 100 gr) dinamakan Kapasitas Tukar Kation (KTK). Kation  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$  yang ada pada air dapat meningkatkan kesadahan air, kation tersebut dapat digantikan oleh kation  $\text{Na}^+$  yang ada pada kerangka zeolit, hal ini yang dinamakan pertukaran kation oleh zeolit. Kation  $\text{Ca}^{2+}$  sisa pada larutan sampel ditentukan konsentrasinya untuk mengetahui banyaknya konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  yang dapat ditukarkan dengan kation  $\text{Na}^+$  pada zeolit. Hasil kapasitas tukar kation pada zeolit hasil sintetik adalah sebagai berikut:

Tabel 3: Hasil Kapasitas Tukar Kation Zeolit Sintetik variasi rasio Si/Al

Sampel	KTK (mek/100 g)
ZS1	146
ZS2	116
ZS3	140
ZS4	272
ZS5	278

Tabel 4: Hasil Kapasitas Tukar Kation Zeolit Sintetik variasi hidrotermal

Zeolit	KTK mek/100 g
Zsa	228,00
ZSb	146,40
ZSc	151,20
ZSd	230,00
Zse	242,00

Dari tabel 3 dan tabel 4 terlihat bahwa ada kecenderungan semakin besar ratio SI/AL dan semakin besar waktu hidrotermal semakin besar pula nilai kapasitas tukar kation, hal ini berbanding lurus dengan kation Na yang terdapat dalam zeolit.

**Detergensi**

Proses detergensi dapat dianalisa dengan membandingkan berat kain bersih, berat kain kotor, dan berat kain setelah pencucian dengan detergen. Kain bersih (awal) dikotori dengan kotoran standar kemudian dikeringkan. Kain kering ditimbang dan dicatat sebagai berat kain kotor, presentase kotoran yang menempel dinyatakan dalam persamaan 1.

$$PK = \frac{BKK - BBB}{BBB} \times 100\% \quad (1)$$

PK merupakan persen kotoran yang menempel pada substrat, BKK merupakan berat kain kotor, dan BBB merupakan berat kain bersih

Kain kotor dicuci dengan larutan detergen dengan waktu tertentu, dikeringkan dan ditimbang. Persen kehilangan kotoran dihitung dengan persamaan 2.

$$PK' = \frac{BKK - BBB'}{BBB'} \times 100\% \quad (2)$$

PK' merupakan persen berkurangnya kotoran, BKK merupakan berat kain kotor dan BBB' merupakan berat kain bersih setelah pencucian

Persen detergensi ditentukan dengan persamaan 3.

$$Detergensi = \frac{PK'}{PK} \times 100\% \quad (3)$$

PK' merupakan persen berkurangnya kotoran dan PK merupakan persen kotoran yang menempel.

Tabel 5: Detergensi SLS: variasi rasio Si/Al

Sampel	Detergensi (%)
SLS + ZS1	86,10
SLS + ZS2	78,04
SLS + ZS3	81,56
SLS + ZS4	97,01
SLS + ZS5	97,55
SLS + STTP	71,35
SLS	48,70

Tabel 6: Detergensi SLS: variasi Waktu hidrotermal

Sampel	Detergensi (%)
SLS + Zsa	80,90
SLS + ZSb	74,55
SLS + ZSc	71,80
SLS + ZSd	85,92
SLS + ZSe	87,73
STPP+SLS	53,32
SLS	30,55

Tabel 5 dan Tabel 6 menunjukkan detergensi dari sls dengan adanya zeolit sintesis (SLS+Zeolit sintesis) dibandingkan dengan detergensi SLS +STPP (Sodium Tri Poli Phosphat) dan detergensi SLS tanpa builder, detergensi menggunakan buider zeolit sintesis lebih besar dari detergensi dengan builder STPP baik untuk variasi rasio Si/Al maupun variasi waktu hidrotermal. Detergensi SLS dengan builder zeolit sintesis berkisar antara 78,04% - 97,55% untuk variasi ratio Si/Al, sedangkan untuk variasi waktu hidrotermal berkisar antara 71,80% - 87,73%. Detergensi SLS + zeolit sintesis variasi rasio Si/Al lebih besar dari variasi waktu hidrotermal, hal ini disebabkan pada sintesis zeolit dengan variasi waktu hidrotermal menggunakan rasio Si/Al adalah 1, jadi semakin tinggi rasio Si/Al semakin tinggi pula detergensi dari SLS, tertinggi 97,55%

**4. Kesimpulan**

Sintesis zeolit dari abu ampas tebu dengan variasi rasio SI/Al dan variasi waktu hidrotermal menghasilkan campuran zeolit-A dan zeolit-X, semakin tinggi rasio SI/Al dan waktu hidrotermal semakin besar pula nilai KTK dan Detergensi SLS.

**5. Daftar Pustaka**

[1] Wempie Gressangga, Suhartana Suhartana, Parsaoran Siahaan, Studi Kemampuan Adsorpsi Zeolit Alam Terdealuminasi terhadap Senyawa Fenol dan 2-Metoksifenol pada Asap Cair Sekam Padi: Eksperimen dan Komputasi AB Initio, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 14, 3, (2011) 94-99

[2] Muslimin Muslimin, Taslimah Taslimah, Rahmad Nuryanto, Studi Pembuatan dan Karakterisasi Membran Pervaporasi Berbahan Dasar Zeolit Alam, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 2, (2014) 65-69

[3] Claudia Belviso, Francesco Cavalcante, Antonio Lettino, Saverio Fiore, Zeolite synthesised from

- fused coal fly ash at low temperature using seawater for crystallization, *Coal Combustion and Gasification Products*, 1, 1, (2009) 8-1  
<http://dx.doi.org/10.4177/CCGP-D-09-00004.1>
- [4] Fitri Lutfiana Rahayu, Rahmad Nuryanto, Linda Suyati, Pengaruh Diameter Kanal Pelet Katalis Zeolit Aktif dan Ni-Zeolit terhadap Pirolisis Limbah Batang Pohon Sagu (*Metroxylon* sp.), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 1, (2013) 33-37
- [5] J. S. Udhoji, Amit Kumar Bansiwal, S. U. Meshram, S. S. Rayalu, Improvement in optical brightness of fly ash based zeolite-A for use as detergent builder, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64, (2005) 367-371
- [6] Sanja Bosnar, Josip Bronić, Đurđica Brlek, Boris Subotić, Chemically controlled particulate properties of zeolites: Towards the face-less particles of zeolite A. 2. Influence of aluminosilicate batch concentration and alkalinity of the reaction mixture (hydrogel) on the size and shape of zeolite A crystals, *Microporous and Mesoporous Materials*, 142, 1, (2011) 389-397  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2010.12.027>
- [7] Cleo Kosanović, Tatjana Antonić Jelić, Josip Bronić, Damir Kralj, Boris Subotić, Chemically controlled particulate properties of zeolites: Towards the face-less particles of zeolite A. Part 1. Influence of the batch molar ratio  $[\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3]_b$  on the size and shape of zeolite A crystals, *Microporous and Mesoporous Materials*, 137, 1, (2011) 72-82  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2010.08.024>
- [8] Chandra Wahyu Purnomo, Chris Salim, Hirofumi Hinode, Synthesis of pure Na-X and Na-A zeolite from bagasse fly ash, *Microporous and Mesoporous Materials*, 162, (2012) 6-13  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.06.007>
- [9] L Shirazi, E Jamshidi, MR Ghasemi, The effect of Si/Al ratio of ZSM-5 zeolite on its morphology, acidity and crystal size, *Crystal Research and Technology*, 43, 12, (2008) 1300-1306
- [10] Ramsharan Singh, Prabir K Dutta, MFI: a case study of zeolite synthesis, *Handbook of Zeolite Science and Technology*, 35, (2003) 21-64
- [11] Keka Ojha, Narayan C. Pradhan, Amar Nath Samanta, Zeolite from fly ash: synthesis and characterization, *Bulletin of Materials Science*, 27, 6, (2004) 555-564  
<http://dx.doi.org/10.1007/bf02707285>
- [12] Halimatun Hamdan, Introduction to Zeolites: Synthesis, Characterization, and Modification, Universiti Teknologi Malaysia, Kuala Lumpur, 1992.



## Decolorization of Artificial Waste Remazol Black B using Electrogenenerated Reactive Spesies

Didik Setiyo Widodo <sup>a\*</sup>, Linda Suyati <sup>b</sup>, Gunawan <sup>a</sup>, Abdul Haris <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [widodo.ds@live.undip.ac.id](mailto:widodo.ds@live.undip.ac.id)

### Article Info

Keywords:  
Electrolysis,  
decolorization,  
remazol black B  
(reactive black 5),  
electrogenenerated  
reactive spesies

Kata Kunci:  
Elektrolisis,  
dekolorisasi,  
remazol black B  
(reactive black 5),  
spesies reaktif  
elektroregenerasi

### Abstract

Electrolysis method (electrodecolorization) coupled with  $\cdot\text{OH}$  radicals and chlorine generation has been performed in decolorizing of artificial waste of remazol black B (reactive black 5). The electrodecolorization as one of advanced oxidation process (AOP) shows its determinant potential in overcoming environmental problems due to dye contained waste as well as its green in design and efficiency. The project aim was to decolorize the RBB solution completely and effectively. The mission was completed by designing decolorizing reactor working with electrolytic system in tandem with electrogeneration of reactive spesies from HCl and NaCl electrolyte. Lead oxide,  $\text{PbO}_2$  was chosen as anode. The efficiency of decolorization process was compared with those of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  as electrolyte. Data of UV-Vis spectrometry, atomic absorption spectrophotometry and COD showed that the performance of electrolysis design was significantly enhanced with the reactive spesies generation process. Electrolysis of 100 mL sample of  $200 \text{ mgL}^{-1}$  RBB with reactive spesies generation was reached almost two-fold faster in decolorizing the dye solution rather than in  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  one. The design reaches more than 99 % in decolorization percentages, reducing COD more than 96 % indicating the potential and effectiveness of electroremediation process.

### Abstrak

Metode elektrolisis (elektrodekolorisasi) ditambah dengan OH radikal dan penghasilan klorin telah dilakukan dalam dekolorisasi limbah buatan remazol black B (reaktif hitam 5). Elektrodekolorisasi sebagai salah satu proses oksidasi lanjut menunjukkan potensi besarnya dalam mengatasi masalah lingkungan karena pewarna yang terkandung limbah dan di sisi lain, ramah dalam desain dan efisien. Tujuan proyek adalah untuk mendekolorisasi larutan RBB secara sempurna dan efektif. Misi ini diselesaikan dengan merancang reaktor dekolorisasi yang bekerja dengan sistem elektrolitik bersama-sama dengan elektrogenerasi spesies reaktif dari HCl dan elektrolit NaCl. Timbal oksida,  $\text{PbO}_2$  dipilih sebagai anoda. Efisiensi proses dekolorisasi ini dibandingkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sebagai elektrolit. Data spektrometri UV-Vis, spektrofotometri serapan atom dan COD menunjukkan bahwa kinerja desain elektrolisis secara signifikan ditingkatkan dengan adanya proses pembentukan spesies reaktif. Elektrolisis 100 mL sampel  $200 \text{ mgL}^{-1}$  RBB dengan generasi spesies reaktif menunjukkan hampir dua kali lipat lebih cepat dibandingkan dengan mendekolorisasi larutan pewarna menggunakan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Desain ini menghasilkan lebih dari 99% dekolorisasi, mengurangi COD lebih dari 96%. Hal ini menunjukkan potensi dan efektivitas proses electroremediation.



## 1. Pendahuluan

Masalah limbah cair industri batik dan tekstil tetap menjadi fokus kajian penanganan. Limbah cair batik dan tekstil selalu mengandung komponen polutan zat warna baik yang *biodegradable* maupun *recalcitrant*. Sifat tersebut berkait dengan jenis golongan senyawaan atau gugus fungsi yang terdapat dalam struktur zat warna. Di sisi lain, produksi batik dan tekstil yang terus meningkat berdampak pada jumlah buangan yang semakin tak terkendali [1].

Penggunaan pewarna sintetik seperti senyawaan azo—*remazol black B (reactive black 5)*, *basic red 76*, *acid red 33*—mendominasi pemilihan pewarna sintetik, karena dalam aplikasi pewarnaan menghasilkan warna yang intensif dengan proses yang mudah dan sangat larut dalam air. *Remazol black B (RBB)* sebagai salah satu pewarna sintetik jenis azo yang banyak dipilih memerlukan kajian penanganan, sehingga limbah yang mengandung RBB dapat dikelola dengan baik, efektif dan efisien.

Berbagai metode telah diusulkan untuk mematangkan sistem desain yang efektif dan efisien. Penanganan limbah cair yang mengandung zat warna telah sejak berabad dikaji untuk menurunkan atau merusak struktur zat warna sehingga tidak lagi membahayakan lingkungan. Pendekatan redoks merupakan salah satu cara yang banyak dikaji, disamping adsorpsi, koagulasi, flokulasi, lumpur aktif, biologi, mikrobiologi dan pengendapan. Pendekatan redoks antara lain metode Fenton, fotokatalisis, elektrofotokatalisis, dan elektrolisis. Pendekatan ini tercakup dalam konteks yang lebih tajam adalah sistem elektrokimia. Pemikiran-pemikiran pendekatan elektrokimia telah banyak dikaji. Salah satu pendekatan elektrokimia adalah metode elektrolisis [2, 3].

Pendekatan elektrolisis merupakan metode alternatif dalam penanganan limbah yang mengandung zat warna, sebagaimana telah dilakukan oleh peneliti terdahulu [4-7]. Keberhasilan teknik elektrolisis mensyaratkan desain sel elektrolisis yang efisien mencakup variabel elektroda, elektrolit, pH sampel, dan utilisasi energi yang memadai. Sementara, mempertimbangkan sistem degradasi sampel dengan metode Fenton [8, 9] menunjukkan bahwa kesuksesan desain Fenton terletak pada sistem degradasi yang melibatkan radikal hidroksil,  $\cdot\text{OH}$ . Radikal ini sangat potensial merusak sistem struktur senyawa organik karena struktur elektron radikal yang sangat tidak stabil. Pada metode berbeda, pembentukan radikal  $\cdot\text{OH}$  dalam degradasi struktur senyawaan organik dapat ditempuh dengan penggunaan material  $\text{PbO}_2$ . Pada berbagai kajian modifikasi elektroda untuk elektrolisis juga memanfaatkan  $\text{PbO}_2$  untuk meningkatkan efektivitas metode, meskipun sangat sulit pada tataran preparasi elektroda. Fakta ini memunculkan pemikiran untuk menyederhanakan sistem pembangkitan radikal serupa untuk menghasilkan proses yang efisien.

Elektrolit sebagai media reaktor pengolahan limbah juga memegang fungsi penting dalam memperoleh

efektivitas proses. Elektrolit memerankan fungsi distribusi dan penghantaran listrik untuk proses penanganan limbah. Pengaruh elektrolit telah dilaporkan pada penelitian terdahulu [10] dengan penggunaan elektrolit  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pada degradasi zat warna sintetik. Thiam *dkk.* [11] melakukan hal yang analog untuk pemrosesan pewarna *ponceau 4R*. Efektivitas proses sebagaimana telah dikaji oleh peneliti terdahulu memungkinkan melanjutkan kajian ini dengan memodifikasi metode. Penelitian ini difokuskan pada sistem pembangkitan radikal dengan mengutamakan proses ramah lingkungan, cepat dan efisien.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan meliputi: zat warna remazol black B (RBB, reactive black 5, dye content  $\geq 50\%$  dari Sigma-Aldrich),  $\text{NaCl}$  (p.a., Merck),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (p.a., Merck), lempeng elektroda  $\text{Pb-PbO}_2$  dan  $\text{Cu-PbO}_2$ , akuades.

Alat-alat yang digunakan: seperangkat peralatan gelas (Pyrex), bench power supply (GW INSTRON GPR-3060D), digital multimeter (SINHWA DT9205A), Potentiostat (Core Sell CS 150), Spektrometri UV-Vis (Shimadzu), dan Spektrofotometer Serapan Atom (Shimadzu)

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini diawali preparasi larutan limbah artifisial, dan analisis awal sampel untuk memperoleh data spektra UV-Vis sampel, analisis AAS, dan nilai COD. Sampel limbah artifisial disiapkan dengan membuat larutan RBB  $200\text{ mgL}^{-1}$ . Sampel ini kemudian dianalisis secara spektrometri UV-Vis untuk memperoleh spektra dan menetapkan panjang gelombang maksimum RBB pada elektrolisis. Sampel juga dianalisis secara AAS untuk memperoleh data kandungan Pb dan Cu. Kandungan senyawaan organik sampel, diuji dengan analisis COD secara spektrometri.

### Penentuan Potensial Aplikasi

Elektrolisis sampel artifisial dilakukan pada potensial aplikasi yang ditentukan dengan mengelektrolisis larutan RBB  $200\text{ mgL}^{-1}$  pada variasi potensial dari 0-10 V dengan elektroanalizer Bench Power Supply GW INSTRON GPR-3060D dan penggunaan elektroda  $\text{Pb-PbO}_2$  dan  $\text{Cu-PbO}_2$ . Arus kecil yang mengalir diukur dengan multimeter SINHWA DT9205A. Data arus di-plotting sebagai grafik arus terhadap potensial. Titik belok grafik ditetapkan sebagai potensial dekomposisi, dan potensial aplikasi ditetapkan beberapa satuan potensial lebih besar dari titik belok tersebut.

### Penentuan Waktu Dekolorisasi Sampel sebagai Fungsi Elektrolit

Kajian pengaruh pembangkitan spesies reaktif diimplementasikan dengan pemilihan elektrolit selama elektrokolorisasi. Elektrolisis divariasi dengan elektrolit  $\text{NaCl}$  dan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Elektrolisis dilakukan pada potensial aplikasi selama beberapa jam. Setiap 30 menit,

absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 595 nm. Data absorbansi dikonversi menjadi konsentrasi RBB tersisa setiap waktu. Pengaruh elektrolit dilihat dari parameter waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan dekolorisasi hingga lebih dari 99 %.

**Elektrodekolorisasi Sampel dan Analisis**

Sampel larutan remazol black B 200 mgL<sup>-1</sup> 100 mL ditambah elektrolit NaCl 0,1 M, kemudian dielektrolisis dengan elektroda Pb-PbO<sub>2</sub> pada potensial aplikasi 5 V. Larutan pascaelektrolisis dianalisis seperti analisis awal sampel. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk elektrolit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan HCl baik elektroda Pb-PbO<sub>2</sub> maupun Cu-PbO<sub>2</sub>. Persentase dekolorisasi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Dekolorisasi} = ([\text{RBB}]_{\text{awal}} - [\text{RBB}]_{\text{akhir}}) / [\text{RBB}]_{\text{awal}} \times 100\%$$

Larutan setelah dielektrolisis dianalisis secara spektrometri UV-Vis, AAS, COD, voltametri siklik sederhana dan pH. Hasil analisis menjadi dasar penilaian potensi dan efektivitas desain dekolorisasi.

**3. Hasil Dan Pembahasan**

Kajian analisis awal sebelum dekolorisasi meliputi kajian spektra UV-Vis, kandungan logam (AAS), COD, dan pH—diperoleh data awal sebagai pembandingan dengan data akhir. Sebelum proses elektrodekolorisasi, absorbansi sampel limbah artifisial remazol black B 200 mgL<sup>-1</sup> diukur pada panjang gelombang maksimum 597 nm, tercatat absorbansi 0,947 pada pengenceran, kandungan 10 kalinya. logam Pb sebesar 0,968 ppm dan Cu 2,443 ppm, pH 7. Berdasarkan hal tersebut pewarna tekstil mengandung mengandung logam yang ditambahkan saat sintesis dalam bentuk sebagai senyawaan aromatik sebagaimana disitir pada laporan lain [12].

Tabel 1: Hasil analisis awal dan akhir sampel remazol black B

Sampel	Waktu Elektrolisis (Menit)	Persentase Dekolorisasi (%)	Kadar Logam		pH	
			Pb (ppm)	Cu (ppm)	Awal	Akhir
RBB 200 mg/L	-	-	0,968	2,443	7	-
RBB + NaCl (Pb-PbO <sub>2</sub> )	150	100,0	8,923	0,253	7	11
RBB + NaCl (Cu-PbO <sub>2</sub> )	150	98,2	44,93	0,521	7	12
RBB + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Pb-PbO <sub>2</sub> )	240	98,5	13,12	0,596	7	5
RBB + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Cu-PbO <sub>2</sub> )	240	98,5	7,138	0,419	7	7

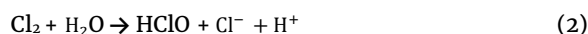
Dalam industri pewarnaan tekstil, logam tembaga merupakan logam yang paling mendominasi setiap jenis pewarna yang digunakan [8], sedangkan timbal biasa digunakan sebagai campuran pewarna, yaitu warna putih timbal sebagai [Pb(OH)<sub>2</sub>.2PbCO<sub>3</sub>] dan warna merah sebagai timbal merah (Pb<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). Logam-logam tersebut dapat terakumulasi pada limbah cair sesudah penggunaan pada industri tekstil atau batik.

Waktu dekolorisasi 100 mL sampel remazol black B 200 mgL<sup>-1</sup> dalam sistem elektrolit NaCl, HCl dan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan elektroda Cu-PbO<sub>2</sub> maupun Pb-PbO<sub>2</sub> berbeda bergantung elektrolit. Penyediaan ion Cl<sup>-</sup> baik sebagai HCl maupun NaCl jauh meningkatkan masa waktu dekolorisasi, 150 menit dibanding 240 menit pada sistem elektrolit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Persentase dekolorisasi juga

tercatat sangat baik (Gambar 1). Dekolorisasi dalam elektrolit Cl<sup>-</sup> berlangsung lebih cepat, terkait dengan proses tandem dalam perusakan struktur zat warna. Dekolorisasi elektrolitik berlangsung melalui dua mekanisme, redoks biasa dan reaksi radikal. Pelibatan sistem spesies radikal didasarkan pada pembentukan *in situ* radikal •OH dan Cl<sub>2</sub> selama proses elektrolisis. Radikal menyerang molekul zat warna dan mendestruksi molekul menjadi molekul sederhana. Radikal terbentuk di permukaan bahan elektroda melalui inisiasi energi listrik yang dicatu dari sistem elektrolisis pada bahan PbO<sub>2</sub>. Bahan ini penyediaan permukaan yang sesuai untuk pembentukan radikal •OH ketika berinteraksi dengan air dan Cl<sub>2</sub> ketika dalam sistem tersedia ion Cl<sup>-</sup> [8]. Pembentukan spesies reaktif dari Cl<sup>-</sup> melibatkan tahap-tahap di bawah [13].



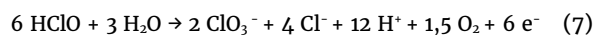
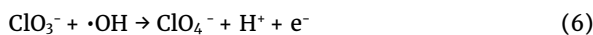
Pada tahap kedua, Cl<sub>2</sub> membentuk asam hipoklorit



yang berada dalam kesetimbangan disosiasi menjadi ion hipoklorit dan hidrogen.



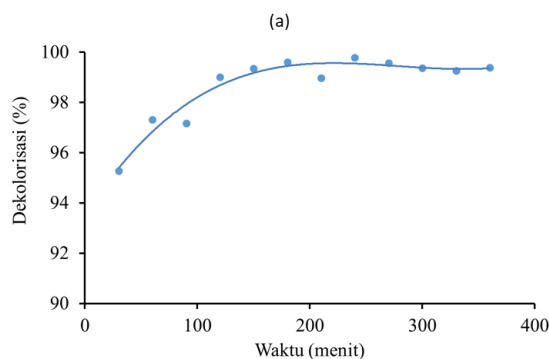
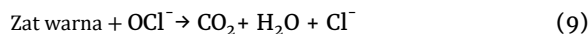
Pada tahap berikutnya, spesies-spesies ini bereaksi secara beruntun, termasuk bereaksi dengan radikal •OH yang dihasilkan pada bagian lain proses elektrodekolorisasi [14].

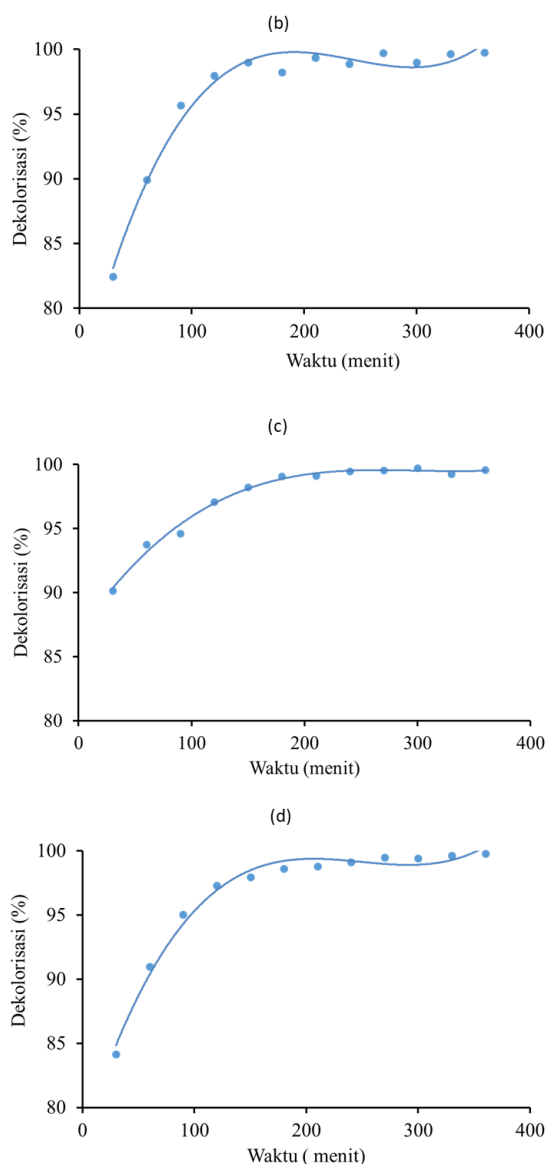


Reaksi 4-7 melemahkan kekuatan oksidasi spesies aktif karena secara energetik kurang memungkinkan. Namun, spesies reaktif klorit dapat mengalami reaksi lain dengan kecukupan energi, ClO<sup>-</sup> dapat membentuk radikal lain yang sangat reaktif (persamaan 8).



Mekanisme dekolorisasi atas peran hipoklorit pada zat warna melalui pembangkitan klorin adalah:



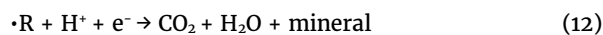
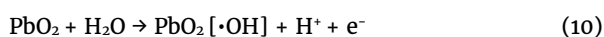


Gambar 1. Kurva hubungan antara waktu elektrolisis dan Persentase dekolorisasi sampel RBB 200 ppm dalam sistem (a) NaCl dengan elektroda Pb-PbO<sub>2</sub> (b) NaCl dengan elektroda Cu-PbO<sub>2</sub> (c) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan elektroda Pb-PbO<sub>2</sub> dan (d) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan elektroda Cu-PbO<sub>2</sub>

Tabel 2: Data analisis COD

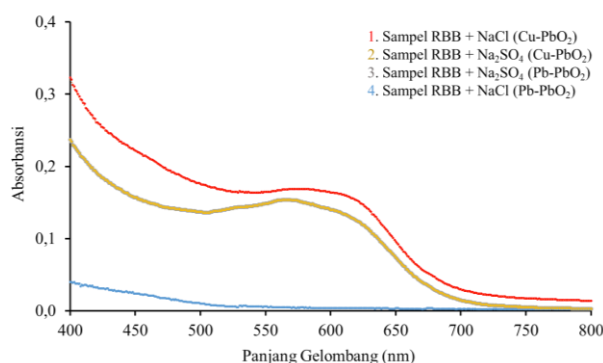
Sampel	COD awal	COD akhir	Penurunan (%)
RBB dalam NaCl	368,77	40,38	88,78
RBB dalam Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	251,70	9,01	96,42

Pada sisi lain, penggunaan elektroda PbO<sub>2</sub> menginisiasi pembentukan radikal hidroksil, •OH untuk menyerang senyawa zat warna (remazol black B) dan menghasilkan radikal-radikal baru sehingga reaksi terjadi secara berantai dan cepat. Reaksi yang terjadi digambarkan dengan skema berikut:



R dalam reaksi di atas melambangkan substrat organik (zat warna).

Hasil spektra UV-Vis sampel larutan remazol black B setelah elektrolisis dapat dilihat pada Gambar 2 dan data analisis larutan remazol black B terdapat pada Tabel 1. Dari data spektra UV-Vis teramati bahwa semua larutan sampel setelah proses elektrolisis memiliki bentuk grafik yang landai atau tidak ada puncak pada panjang gelombang visible, hal ini menunjukkan telah terjadinya penurunan konsentrasi zat warna, dengan perubahan warna dari biru tua menjadi bening (transparan).



Gambar 2. Spektra UV-Vis sampel setelah proses elektrolisis

Analisis larutan setelah elektrolisis (Tabel 1) menunjukkan beberapa parameter yang harus dikaji lanjut untuk menurunkan kandungan logam dan pengaturan pH menuju netral. Analisis voltammetrik dengan perbandingan dengan standar CO<sub>2</sub> terlarut juga meingindikasikan kesamaan potensail puncak yang sama dan menunjukkan keberadaan CO<sub>2</sub> sebagai produk dekolorisasi (Gambar 3). Memperhatikan parameter COD penurunan hingga 96,42 %, warna transparan (tak terdeteksi warna pada panjang gelombang maksimum, dekolorisasi 100 %), dan data voltammetri maka disimpulkan dekolorisasi larutan limbah artifisial yang mengandung RBB berlangsung sempurna menghasilkan CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O. Dekolorisasi berlangsung lebih cepat pada keberadaan ion Cl<sup>-</sup> dengan pemilihan elektrolit HCl dan NaCl selama elektrolisis.

#### 4. Kesimpulan

Metode elektrolisis dengan pemilihan material elektroda PbO<sub>2</sub> dan elektrolit Cl<sup>-</sup> dan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mampu mendekolorisasi sampel limbah artifisial remazol black B (reactive black 5) hingga sempurna. Dalam media mengandung Cl<sup>-</sup> elektrokolorisasi berlangsung jauh lebih cepat dan penurunan COD yang cukup baik. Data riset menunjukkan elektrokolorisasi 200 mgL<sup>-1</sup> RBB sebanyak 100 mL dalam waktu paling singkat 150 menit mampu mencapai lebih dari 99 % dekolorisasi diikuti dengan penurunan COD hingga 96,42 %.

## 5. Persantunan

Penulis mengucapkan terimakasih atas terselesaikannya penelitian ini atas support penadaan melalui Hibah Penelitian Madya FSM Universitas Diponegoro tahun 2017 dengan nomer kontrak 1644e/UN7.5.8/PP/2017 tanggal 3 April 2017.

## 6. Daftar Pustaka

- [1] Titik Darmawanti, Suhartana Suhartana, Didik Setiyo Widodo, Pengolahan Limbah Cair Industri Batik dengan Metoda Elektrokoagulasi Menggunakan Besi Bekas Sebagai Elektroda, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 13, 1, (2010) 18-24
- [2] Sulistias Mustika, Abdul Haris, Nor Basid Adiwibawa Prasetya, Kajian Metode Elektrofotokatalisis, Elektrolisis dan Fotokatalisis pada Dekolorisasi Larutan Zat Warna Remazol Black B yang Mengandung Ion Logam Cu<sup>2+</sup>, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 1, (2013) 17-22
- [3] Arthias Cita Febriyani, Rum Hastuti, Abdul Haris, Kajian Metode Elektrofotokatalisis, Elektrolisis dan Fotokatalisis pada Dekolorisasi Larutan Zat Warna Remazol Brilliant Orange 3R yang Mengandung Ion Logam Cu<sup>2+</sup>, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15, 1, (2012) 7-12
- [4] MS Morsi, AA Al-Sarawy, WA Shehab El-Dein, Electrochemical degradation of some organic dyes by electrochemical oxidation on a Pb/PbO<sub>2</sub> electrode, *Desalination and Water Treatment*, 26, 1-3, (2011) 301-308
- [5] Vinod Kumar Gupta, Rajeev Jain, Shaily Varshney, Electrochemical removal of the hazardous dye Reactofix Red 3 BFN from industrial effluents, *Journal of Colloid and Interface Science*, 312, 2, (2007) 292-296  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2007.03.054>
- [6] Haiming Zou, Yan Wang, Azo dyes wastewater treatment and simultaneous electricity generation in a novel process of electrolysis cell combined with microbial fuel cell, *Bioresource Technology*, 235, (2017) 167-175  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.093>
- [7] P D Riyanto, *Elektrokimia dan aplikasinya*, Graha Ilmu, Yogyakarta, 2013.
- [8] Dayanne Chianca de Moura, Marco Antonio Quiroz, Djalma Ribeiro da Silva, Ricardo Salazar, Carlos Alberto Martínez-Huitle, Electrochemical degradation of Acid Blue 113 dye using TiO<sub>2</sub>-nanotubes decorated with PbO<sub>2</sub> as anode, *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 5, (2016) 13-20  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.enmm.2015.11.001>
- [9] Seong-Hoon Hong, Byung-Hyuk Kwon, Jea-Keun Lee, Il-Kyu Kim, Degradation of 2-chlorophenol by Fenton and photo-Fenton processes, *Korean Journal of Chemical Engineering*, 25, 1, (2008) 46-52  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11814-008-0008-3>
- [10] GP Gallios, I Voinovschi, A Voulgaropoulos, Effect of electrolytes on the electrochemical oxidation of synthetic dyes, in: *Water Treatment Technologies for the Removal of High-Toxicity Pollutants*, Springer, 2009, pp. 169-176.
- [11] Abdoulaye Thiam, Enric Brillas, Francesc Centellas, Pere L. Cabot, Ignasi Sirés, Electrochemical reactivity of Ponceau 4R (food additive E124) in different electrolytes and batch cells, *Electrochimica Acta*, 173, (2015) 523-533  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2015.05.085>
- [12] I. M. Banat, P. Nigam, G. McMullan, R. Marchant, D. Singh, The isolation of thermophilic bacterial cultures capable of textile dyes decolorization, *Environment International*, 23, 4, (1997) 547-551  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0160-4120\(97\)00061-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0160-4120(97)00061-5)
- [13] Nasser Abu Ghalwa, Mazen Hamada, Hazem M. Abu Shawish, Omar Shubair, Electrochemical degradation of linuron in aqueous solution using Pb/PbO<sub>2</sub> and C/PbO<sub>2</sub> electrodes, *Arabian Journal of Chemistry*, 9, (2016) S821-S828  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.08.006>
- [14] RB Alencar de Souza, LA Martins Ruotolo, Phenol electrooxidation in different supporting electrolytes using boron-doped diamond anodes, *International Journal of Electrochemical Science*, 8, 1, (2013) 643-657



## Effect of ZnO Dopant on TiO<sub>2</sub> on Simultaneous Decrease of Phenol, Pb(II) and COD using Photocatalysis Method

Steffita Rahayuning Purbandini<sup>a</sup>, Abdul Haris<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Analytical Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [a.haris@live.undip.ac.id](mailto:a.haris@live.undip.ac.id)

Article Info	Abstract
<p>Keywords:            photocatalytic,            dopant, TiO<sub>2</sub>/ZnO</p>	<p>A study entitled the effect of ZnO dopant on TiO<sub>2</sub> on the decrease in phenol, Pb (II), and COD levels simultaneously has been performed. This study aims to synthesize TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>/ZnO composites, to determine the character of TiO<sub>2</sub>/ZnO, and to measure the activity of TiO<sub>2</sub>/ZnO and TiO<sub>2</sub> composites on the degradation of phenol wastes, decrease of Pb (II) and COD concentration. The method used was photocatalysis with TiO<sub>2</sub> and with TiO<sub>2</sub>/ZnO. The characterization of TiO<sub>2</sub>/ZnO composites was analyzed using SEM-EDS. Photocatalysis was measured using a time variable of 1-4 hours with UV light. In photocatalysis using TiO<sub>2</sub>/ZnO composite, it was found that the maximum reduction of phenol, Pb (II), and COD concentrations occurred at the time of photocatalysis for 4 hours.</p>
<p>Kata Kunci:            fotokatalisis,            dopan, TiO<sub>2</sub>/ZnO</p>	<p>Penelitian yang berjudul pengaruh dopan ZnO pada TiO<sub>2</sub> terhadap penurunan kadar fenol, Pb(II), dan COD secara simultan telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis TiO<sub>2</sub> dan komposit TiO<sub>2</sub>/ZnO, menentukan karakter TiO<sub>2</sub>/ZnO, serta mengukur aktivitas komposit TiO<sub>2</sub>/ZnO dan TiO<sub>2</sub> terhadap degradasi limbah fenol, penurunan konsentrasi Pb(II) dan COD. Metode yang digunakan adalah fotokatalisis dengan TiO<sub>2</sub> dan dengan TiO<sub>2</sub>/ZnO. Karakterisasi komposit TiO<sub>2</sub>/ZnO dianalisis menggunakan SEM-EDS. Fotokatalisis diukur menggunakan variabel waktu yaitu 1-4 jam dengan sinar UV. Pada fotokatalisis menggunakan komposit TiO<sub>2</sub>/ZnO, didapatkan bahwa penurunan maksimal dari konsentrasi fenol, Pb(II), dan COD terjadi pada waktu fotokatalisis selama 4 jam.</p>

### 1. Pendahuluan

Pesatnya aktivitas perindustrian masa kini, berbagai jenis limbah logam berat dan senyawa organik yang dihasilkan menjadi masalah yang serius pada lingkungan. Fenol merupakan salah satu senyawa beracun yang dihasilkan dari limbah rumah sakit. Penghilangan fenol tidaklah mudah dengan metode komersial. [1], sedangkan Pb (II) merupakan salah satu ion logam berat yang dapat mempengaruhi lingkungan. Tingginya kadar Pb(II) berbahaya apabila terhirup atau tertelan, dan Pb(II) dapat menyebabkan risiko kesehatan jangka panjang bagi manusia dan ekosistem [2].

Metode alternatif yang digunakan untuk mengolah limbah logam berat dan senyawa organik secara simultan adalah fotokatalisis [3]. Salah satu material fotokatalis yang digunakan adalah TiO<sub>2</sub>. Banyak cara telah dilakukan untuk meningkatkan aktivitas material TiO<sub>2</sub>, salah satunya dengan penambahan dopan. Dalam penelitian Slamet *dkk.* [4] mengatakan bahwa ZnO pada TiO<sub>2</sub> akan memberikan efektivitas yang lebih baik dalam degradasi fenol dan penurunan kadar logam pada limbah campuran menjadi lebih tinggi, sehingga dapat memiliki aktivitas paling maksimal, penambahan ZnO berfungsi sebagai donor elektron dari konduksi ZnO ke pita konduksi TiO<sub>2</sub> [5]. Akibatnya dapat mengurangi laju

rekombinasi pasangan elektron-hole, sehingga proses redoks akan semakin efektif.

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan lapis tipis  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$ , dikarenakan penggunaan serbuk katalis dalam cairan tidak efisien, karena serbuk yang telah terdispersi dalam air sangat sulit diregenerasi dan bila campuran terlalu keruh, maka radiasi UV tidak mampu mengaktifkan seluruh partikel fotokatalis [6, 7]. Disamping untuk mengetahui penurunan fenol dan  $\text{Pb(II)}$  dilakukan analisis COD. *Chemical Oxygen Demand (COD)* merupakan jumlah oksigen yang diperlukan agar bahan buangan didalam air dapat teroksidasi melalui reaksi kimia.

Karakterisasi komposit  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  dengan SEM-EDS. Sedangkan hasil limbah yang sudah melalui proses fotokatalisis untuk fenol dan logam  $\text{Pb(II)}$  dianalisis dengan Spektrofotometer UV-Vis dan AAS, dan untuk mengetahui nilai COD dengan metode titrimetri.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Gelas beker, timbangan listrik, pH meter Scoth, reaktor fotokatalisis, *furnace*, Spektrofotometer UV-Vis, dan Instrumen *Scanning Electron Microscopy-Electron Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS)*. Akuades,  $\text{TiCl}_4$  p.a.,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{ZnO}$  teknis,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$  p.a., 4-AAP (4-aminoantipirin),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  p.a.,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  p.a., fenol,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , etanol dan polivinil alkohol (PVA) p.a.

### Pembuatan $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$

Tahap pertama sintesis  $\text{TiO}_2$  yaitu dipipet sebanyak 20 mL  $\text{TiCl}_4$  dan ditambahkan etanol tetes demi tetes, lalu diaduk selama 30 menit. Kemudian, dilakukan pemanasan pada temperatur  $60^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan pendinginan sampai terbentuk gel dan pemisahannya dengan cara dekantasi. Setelah itu dilakukan pencucian dengan akuades, sehingga akan terbentuk gel  $\text{TiO}_2$ . Hasil penyaringan gel  $\text{TiO}_2$ , dioven  $150^\circ\text{C}$  selama 4 jam dan kalsinasi  $500^\circ\text{C}$  selama 3 jam sehingga dihasilkan padatan  $\text{TiO}_2$  yang berwarna putih. Padatan  $\text{TiO}_2$  yang telah disintesis ditambahkan dengan  $\text{ZnO}$  teknis sebagai dopan dan dilarutkan ke dalam air sehingga terbentuk suspensi kemudian dilakukan pengadukan selama satu jam, setelah itu dilakukan pemanasan pada suhu  $90^\circ\text{C}$  yang disertai dengan pengadukan selama 3 jam. Pada tahap akhir yaitu tahap pengeringan pada suhu  $150^\circ\text{C}$  selama 2 jam dan dikalsinasi pada suhu  $500^\circ\text{C}$  selama 1 jam dan akan terbentuk padatan  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  yang berwarna putih yang kemudian dikarakterisasi menggunakan SEM-EDS.

### Pelekatan Pada Kaca TCO

Pencampuran  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  dan PVA (*polyvinyl alcohol*) dengan perbandingan massa 1:4. Pasta  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  tersebut dideposisikan di atas permukaan kaca TCO dengan menggunakan batang pengaduk. Kemudian, dikeringkan dan dimasukkan ke dalam *furnace* pada suhu  $500^\circ\text{C}$  selama 2 jam (pemanasan dilakukan dengan kenaikan suhu secara bertahap).

### Preparasi Larutan Kerja

Larutan fenol 1000 ppm didapatkan dengan cara 1 gram dilarutkan kedalam labu takar 1000 mL dan ditepatkan hingga tanda tera dengan akuades. Untuk mendapatkan larutan fenol dengan konsentrasi 7,5 ppm didapatkan dengan melarutkan 20 mL larutan induk fenol ke dalam 1000 mL akuades pada labu takar 1000 mL. Larutan  $\text{Pb(II)}$  1000 ppm dibuat dengan melarutkan 1,59 gram padatan  $\text{Pb(NO}_3)_2$  dalam akuades hingga volumenya 1000 mL. Untuk larutan  $\text{Pb(II)}$  13 ppm dengan mengambil 20 ml larutan  $\text{Pb}$  yang dilarutkan dalam 1000 ml pada labu takar. Larutan sampel yang digunakan untuk fotokatalisis sebanyak 200 mL, merupakan campuran larutan fenol dan  $\text{Pb(II)}$  dengan perbandingan volume 1:1.

### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum larutan fenol ditentukan dengan mengukur besar absorbansi pada berbagai panjang gelombang dari 400 nm sampai 700 nm. Larutan fenol ditambahkan beberapa reagen tertentu sehingga membentuk kompleks yang dapat dianalisis pada 450-700 nm. Reagen tambahannya yaitu: Amonium Hidroksida ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), *buffer* Posfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), Kalium Ferisianida ( $\text{K}_4\text{FeCN}_6$ ) serta 4-aminoantipirin (4-AAP).

### Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Fenol

Pembuatan larutan standar fenol dengan variasi konsentrasi 1-10 ppm untuk membentuk kurva kalibrasi standar yang akan digunakan sebagai analisis kadar awal dan akhir fenol selama fotokatalisis.

### Analisis Menggunakan SEM-EDS

Sintesis  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  yang terbentuk dianalisis menggunakan SEM-EDS untuk mengetahui morfologi permukaan, ukuran kristal, serta banyaknya  $\text{ZnO}$  yang terdopankan pada  $\text{TiO}_2$ .

### Fotokatalisis Larutan Sampel

Penyiapan larutan sampel sebanyak 200 mL yang terdiri dari campuran larutan fenol dan larutan  $\text{Pb(II)}$ . Fotokatalisis dilakukan di dalam reaktor fotokatalis dan dilakukan penyinaran dengan sinar UV selama 1-4 jam.

### Metode Analisis

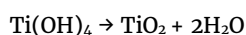
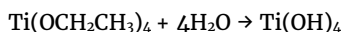
untuk analisis fenol dengan *Spektrofotometer UV-Vis* dengan metode aminoantipirin, analisis logam  $\text{Pb}$  dengan menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA), dan penurunan COD dengan metode titrimetri.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### Sintesis Fotokatalis $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$

Sintesis  $\text{TiO}_2$  dibuat dengan cara mencampurkan  $\text{TiCl}_4$  dengan etanol. Pencampuran antara  $\text{TiCl}_4$  dengan etanol ini akan menghasilkan suatu Ti-polihidroksi atau Ti-alkoksida yaitu  $\text{Ti(OEt)}_4$ . Kemudian  $\text{Ti(OCH}_2\text{CH}_3)_4$  yang terbentuk ditambah dengan air bebas ion agar terjadi hidrolisis dan terbentuk  $\text{Ti(OH)}_4$  yang dengan proses kalsinasi akan terbentuk  $\text{TiO}_2$ . Proses kalsinasi

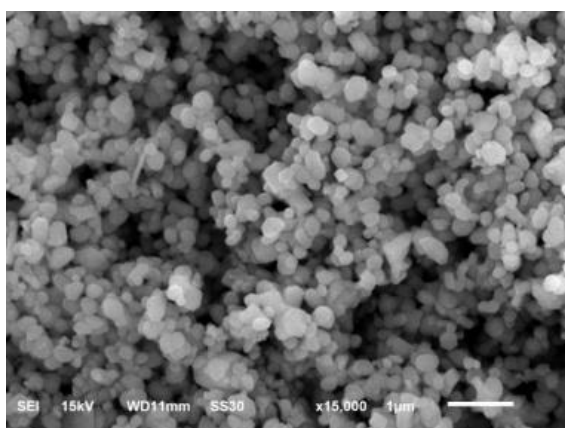
berfungsi untuk mengubah senyawa kompleks Ti(OH)<sub>4</sub> menjadi TiO<sub>2</sub>. Reaksi yang terjadi yaitu sebagai berikut:



Hasil dari kalsinasi didapatkan TiO<sub>2</sub> berbentuk serbuk putih. Katalis yang digunakan keduanya merupakan serbuk dengan menggunakan perbandingan titanium dioksida dengan zink oksida 2:1, dimana ZnO yang digunakan adalah ZnO teknis. Katalis TiO<sub>2</sub> dan ZnO yang dicampur kemudian dibentuk menjadi pasta dengan beberapa tetes air suling. Hasil dari penambahan ZnO tersebut kemudian dikalsinasi pada suhu 500°C. TiO<sub>2</sub>/ZnO yang terbentuk kemudian dikarakterisasi dengan SEM-EDS.

**Karakterisasi Fotokatalis TiO<sub>2</sub>/ZnO Menggunakan SEM**

Karakterisasi menggunakan SEM untuk mengetahui bentuk permukaan dari material fotokatalis TiO<sub>2</sub>/ZnO yang terbentuk. Hasil karakterisasi menggunakan SEM menunjukkan pencitraan sebagai berikut:

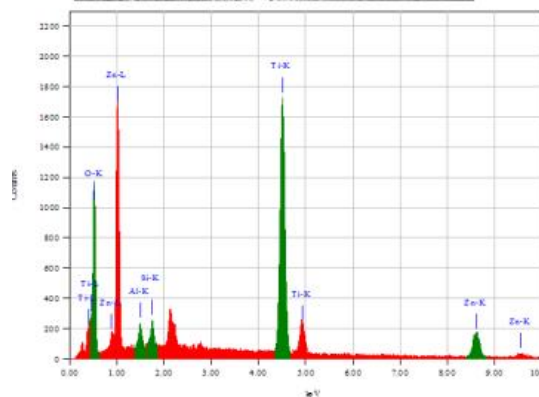
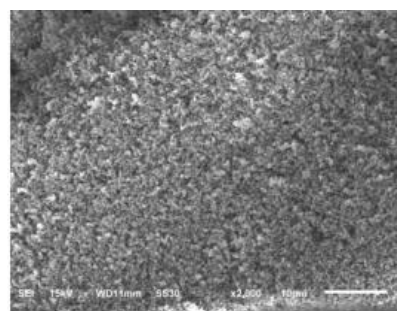


Gambar 1. Morfologi TiO<sub>2</sub>/ZnO

Dari hasil analisis SEM TiO<sub>2</sub>/ZnO memperlihatkan bentuk kristal yang tidak homogen dan teramati dengan bentuk membulat. Ketidak homogenan ini akibat adanya sintering, yaitu penggerombolan kristal karena adanya pemanasan yang tinggi.

**Karakterisasi Fotokatalis TiO<sub>2</sub>/ZnO Menggunakan EDS**

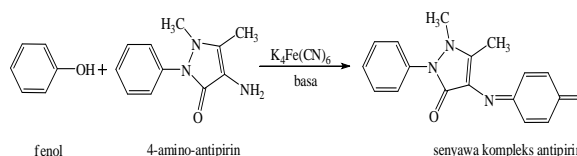
Berdasarkan hasil analisis SEM-EDS didapatkan komposisi senyawa pada hasil spektrum tersebut. Spektrum EDS TiO<sub>2</sub>/ZnO memperlihatkan munculnya puncak Ti dan Zn. Puncak Ti ditunjukkan dengan warna hijau, sedangkan puncak Zn ditunjukkan dengan warna merah. Dalam spektrum, terlihat bahwa ZnO telah mampu terdopankan pada TiO<sub>2</sub>. Adanya unsur baru yang timbul pada hasil SEM-EDS seperti adanya unsur Al dan Si diduga merupakan pengotor yang muncul ketika proses sintesis yang berasal dari penggunaan serbuk ZnO teknis.



Gambar 2. Spektrum EDS

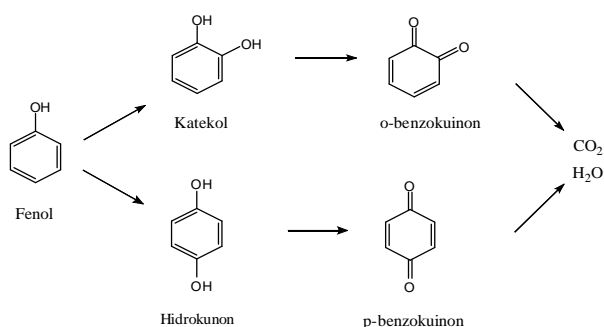
**Fotokatalisis Degradasi Fenol**

Proses oksidasi fenol yaitu dengan perlakuan penyinaran UV, fotokatalisis dengan TiO<sub>2</sub>, dan fotokatalisis dengan TiO<sub>2</sub>/ZnO. Sebelum proses fotokatalisis, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum (serapan maksimum fenol dengan berbagai konsentrasi fenol yang ditambahkan dengan ammonium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH), buffer fosfat, amino antipirin dan kalium ferisianida sesuai dengan metode 4-aminoantipirin sehingga terbentuk kompleks yang berwarna dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis [8].



Gambar 3. Reaksi Fenol dengan 4-AAP

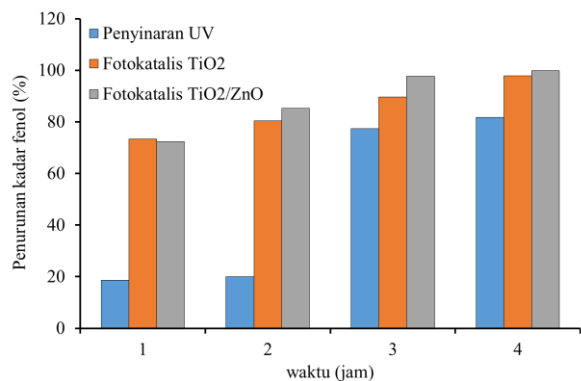
Sampel fenol didegradasi menggunakan waktu penyinaran selama 1-4 jam. TiO<sub>2</sub>/ZnO merupakan material semikonduktor yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa organik berbahaya bagi lingkungan, seperti fenol, menjadi senyawa yang relatif lebih sederhana dan lebih aman. Degradasi fotokatalisis fenol mengikuti mekanisme berikut :



Gambar 4. Mekanisme dasar fotokatalitik dari degradasi fenol adalah melibatkan pembentukan OH• pada permukaan katalis diikuti adanya interaksi antara OH• dengan substrat serta dengan berbagai intermediet seperti katekol, p-benzokuinon, dan hidrokuinon, hole pada permukaan semikonduktor (htr+) mengoksidasi air atau ion OH- membentuk radikal hidroksil (OH•).

Konversi langsung dari fenol menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O tidak mungkin, namun air dapat mengambil bagian dalam reaksi bersama dengan oksigen terlarut hadir pada medium untuk menghasilkan intermediet dihidroksilasi dan pada akhirnya akan menjadi produk akhir.

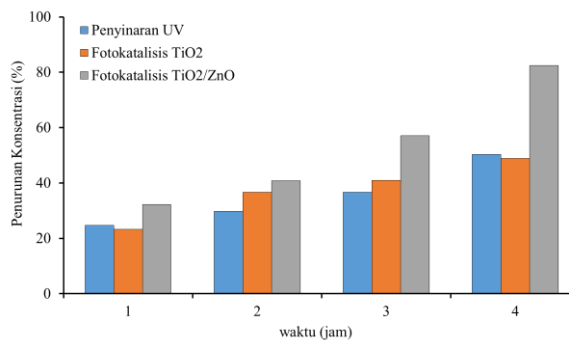
Oksidasi fenol dapat terjadi dengan adanya perlakuan dengan penyinaran UV saja. Penggunaan sinar UV dapat menurunkan kadar fenol karena untuk proses degradasi fenol memerlukan cahaya, sehingga tanpa menggunakan fotokatalis pun fenol dapat terdegradasi. Peran dari energi foton disini menyebabkan fenol dapat teroksidasi. Namun hasil oksidasi fenol belum maksimal, sehingga penurunan kadar fenolnya lebih kecil dari penggunaan fotokatalis TiO<sub>2</sub> dan TiO<sub>2</sub>/ZnO.



Gambar 5. Persentase Degradasi Fenol

**Fotokatalisis Reduksi Pb(II)**

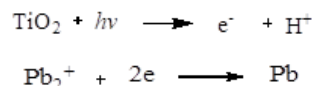
Analisis penurunan kadar Pb adalah dengan menggunakan Spektroskopi Serapan Atom (SSA) yaitu dengan mengukur kadar awal larutan dengan kadar akhir setelah fotokatalisis



Gambar 6. Persentase Reduksi Pb(II)

Perlakuan dengan hanya menggunakan sinar UV saja sudah memberikan hasil penurunan konsentrasi Pb(II), hal ini terjadi karena pada limbah tersebut terdapat fenol yang dapat teroksidasi karena adanya suplai energi foton, ketika fenol teroksidasi maka elektron bebas dari fenol akan digunakan untuk mereduksi logam yang menyebabkan terhambatnya rekombinasi elektron hole. Dengan demikian maka elektron akan lebih leluasa dalam mereduksi logam Pb(II). Sehingga hanya dengan penyinaran sinar UV saja reaksi reduksi dapat berjalan. Akan tetapi hasilnya kurang maksimal, karena penurunan logam beratnya hanya sedikit. Jadi perlu adanya fotokatalis untuk menambah efektivitas dalam reduksi logam Pb(II).

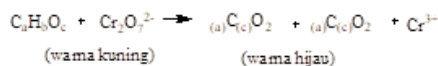
Mekanisme dasar terjadinya proses reduksi Pb(II) dengan fotokatalis adalah terbentuknya pasangan electron-hole pada permukaan katalis ketika diberi energi foton yang sesuai. Elektron yang tereksitasi dan sampai ke permukaan katalis dapat mereduksi logam berat yaitu Pb(II).



Adanya ZnO sebagai dopan pada TiO<sub>2</sub> memberikan hasil yang paling baik dalam penurunan kadar Pb(II) pada sampel. ZnO disini dapat berfungsi sebagai donor elektron dari pita konduksi ZnO ke pita konduksi TiO<sub>2</sub>, karena pita konduksi dari TiO<sub>2</sub> lebih tinggi dari pita konduksi ZnO. Elektron yang tereksitasi dari pita valensi TiO<sub>2</sub> akan melewati pita konduksi ZnO terlebih dahulu, sehingga dapat mengurangi laju rekombinasi pasangan elektron-hole, oleh sebab itu proses fotokatalis yaitu reduksi Pb(II) dan oksidasi fenol yang terjadi pada limbah campuran ini semakin efektif.

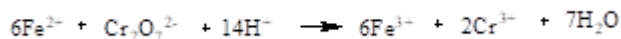
**Penurunan nilai COD**

COD (Chemical Oxygen Demand) merupakan salah satu parameter kimiawi yang digunakan untuk mengetahui besarnya tingkat pencemaran zat organik pada limbah cair. Dalam pengukuran COD bahan organik akan dioksidasi oleh kalium bikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) digunakan sebagai sumber oksigen.





Untuk memastikan bahwa hampir semua zat organik teroksidasi maka zat pengoksidasi  $K_2Cr_2O_7$  masih tersisa sesudah di refluks.  $K_2Cr_2O_7$  sisa digunakan untuk menentukan berapa oksigen yang telah terpakai. Sisa  $K_2Cr_2O_7$  ditentukan melalui reaksi titrasi dengan ferro ammonium sulfat (FAS), dimana reaksi yang berlangsung adalah sebagai berikut:



Untuk mengetahui nilai COD dapat dihitung dengan rumus di bawah:

$$COD \left( \frac{mg}{L} \right) O_2 = \frac{(A - B) \cdot (N) \cdot (8000)}{V \cdot \text{sampel}}$$

Dimana:

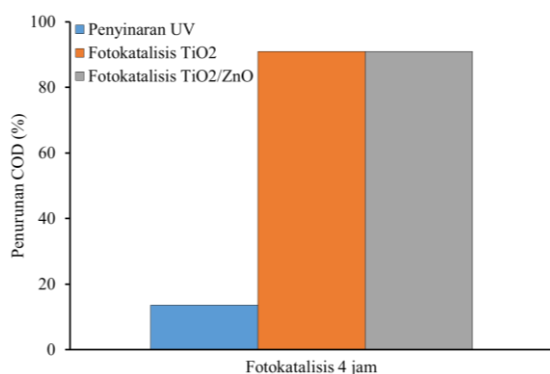
A : Volume FAS (Fero ammonium sulfat) yang dibutuhkan untuk blanko (mL)

B : Volume larutan FAS yang dibutuhkan untuk sampel (mL)

N : Normalitas larutan FAS

V : Volume sampel (mL)

Hasil yang didapat dari perhitungan dengan rumus di atas, presentase penurunan nilai COD hasil fotokatalisis dapat dilihat pada grafik di bawah ini :



Gambar 7. Presentase Penurunan COD

Berdasarkan gambar 7 dapat diketahui bahwa presentase penurunan nilai COD paling baik adalah sampel hasil fotokatalisis  $TiO_2/ZnO$  dengan presentase penurunan sebesar 91%, namun hasil dari fotokatalisis dengan  $TiO_2$  memberikan penurunan COD yang hampir sama. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa penurunan COD dengan menggunakan katalis  $TiO_2$  saja cukup memberikan hasil yang signifikan, meskipun hasil penurunan yang didapatkan tidak maksimal.

Nilai COD yang diberikan oleh sampel yang hanya diberi penyinaran UV, hanya memberikan penurunan nilai COD yang tidak signifikan. Sedangkan sampel yang menggunakan fotokatalis  $TiO_2$  dan  $TiO_2/ZnO$  memberikan hasil penurunan COD lebih besar dibandingkan tanpa fotokatalis. Sehingga peran katalis disini berfungsi untuk mendegradasi senyawa organik seperti pada proses degradasi fenol di atas dapat dijelaskan ketika katalis disinari oleh cahaya UV menyebabkan hole yang terbentuk pada pita valensi  $TiO_2$  menghasilkan  $\cdot OH$  yang akan mengoksidasi senyawa

organik yang ada pada sampel. Nilai awal COD sampel adalah sebesar 3040 dan setelah diberikan perlakuan dengan penyinaran UV, fotokatalis  $TiO_2$ , dan  $TiO_2/ZnO$  masing-masing adalah sebesar 2672; 274; 272 yang berarti bahwa didalam sampel tersebut masih terdapat senyawa organik.

#### 4. Kesimpulan

Penelitian ini telah berhasil mensintesis  $TiO_2$  serta membuat komposit  $TiO_2/ZnO$  yang digunakan sebagai katalis untuk penurunan kadar fenol,  $Pb(II)$ , serta COD secara simultan pada metode fotokatalisis. Berdasarkan hasil karakterisasi dengan SEM-EDS, terbukti bahwa  $ZnO$  telah mampu terdopankan pada  $TiO_2$  dengan morfologi permukaan  $TiO_2/ZnO$  yang dihasilkan sebesar 0,65  $\mu m$ . Berdasarkan hasil yang diperoleh penurunan maksimal adalah pada penurunan kadar fenol,  $Pb$ , dan COD menggunakan komposit  $TiO_2/ZnO$  selama 4 jam yaitu sebesar 98,1%; 82,4%; dan 91,05%. Hasil ini menunjukkan bahwa metode fotokatalisis dengan menggunakan komposit  $TiO_2/ZnO$  lebih efektif dibandingkan menggunakan  $TiO_2$ .

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Hanuman Naik Sugali, Biraj Kr Kakati, Anil Verma, Accelerated solar photocatalytic degradation of phenol using titanium dioxide, *Journal of Environmental Research And Development Vol*, 3, 3, (2009)
- [2] Xiu-Wen Wu, Hong-Wen Ma, Jing Yang, Feng-Jiao Wang, Zhi-Hong Li, Adsorption of  $Pb(II)$  from aqueous solution by a poly-elemental mesoporous adsorbent, *Applied Surface Science*, 258, 14, (2012) 5516–5521  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2012.02.097>
- [3] Siti Fatimah, Abdul Haris, Pengaruh Dopan Zink Oksida pada  $TiO_2$  terhadap Penurunan Kadar Limbah Fenol dan  $Cr(VI)$  secara Simultan dengan Metode Fotokatalisis, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 3, (2014) 86–89
- [4] Slamet Slamet, R Arbianti, E Marliana, Pengolahan limbah  $Cr(VI)$  dan Fenol dengan Fotokatalis Serbuk  $TiO_2$  dan  $CuO/TiO_2$ , *Reaktor*, 11, 2, (2007) 78–85  
<http://dx.doi.org/10.14710/reaktor.11.2.78-85>
- [5] Juwita Kesumaningrum, Nor Basid Adiwibawa Prasetya, Ahmad Suseno, Adsorpsi Fenol dengan  $TiO_2/zeolit$  artificial Berbahan Dasar Sekam Padi dan Limbah Kertas, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 14, 1, (2011) 26–31
- [6] Rachmat Triandi Tjahjanto, Jarnuzi Gunlazuardi, Preparasi Lapisan Tipis  $TiO_2$  sebagai Fotokatalisis: Keterkaitan antara Ketebalan dan Aktivitas Fotokatalisis, *Jurnal Penelitian Universitas Indonesia*, 5, 2, (2001) 81–91
- [7] Arnelli, Ismiyarto, Kegunaan Zeolit Termodifikasi Sebagai Penyerap Anion, *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 3, 1, (2000) 41–84
- [8] Diah Lestari, Wisnu Sunarto, Eko Budi Susatyo, Preparasi Nanokomposit  $ZnO/TiO_2$  Dengan Sonokimia serta Uji Aktivitasnya untuk Fotodegradasi Fenol, *Indonesian Journal of Chemical Science*, 1, 1, (2012)



## Improvement of Bioactivity with Nanoparticle Fabrication: Cytotoxic Test of Ethanol, N-Hexane and Ethyl Acetate Extract from Red Galangal Rhizome (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum) in Bulk and Nanoparticle size using BSLT Method

Enny Fachriyah<sup>a\*</sup>, Dewi Kusriani<sup>a</sup>, Pratama Jujur Wibawa<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [enny.fachriyah@live.undip.ac.id](mailto:enny.fachriyah@live.undip.ac.id)

### Article Info

**Keywords:**  
 Red galangal, nanoparticles, maceration, ethanol, n-hexane, ethyl acetate, cytotoxic activity, BSLT, LC<sub>50</sub>

**Kata Kunci:**  
 Laos merah, nanopartikel, maserasi, etanol, n-heksana, etil asetat, aktivitas sitotoksik, BSLT, LC<sub>50</sub>

### Abstract

Some of the secondary metabolites present in red algae are terpenoids, quinones, flavonoids, alkaloids, essential oils, diarylheptanoids, steroids, cardioglycosides, oils and fats, tannins, carbohydrates. Activity of rhizomes, leaves and flowers red leaf is as antimicrobial, anti-fungal, anti-oxidants, anti-tumor, anti-cancer and vasodilator. One way to improve the physical, chemical and bioactivity properties of natural compounds was to make them into nanoparticles. In this study, the isolation of bioactive compounds contained in red laos rhizome by maceration method using ethanol solvent was done, then partitioned with n-hexane and ethyl acetate. The extracts thus obtained are fabricated into nanoparticles. Extracts in bulk and nanoparticles were then tested for cytotoxic activity using BSLT method. Results of analysis with PSA showed that ethanol extract had size 410,8 nm, n-hexane extract 220,7 nm and ethyl acetate extract 208,3 nm. The results of cytotoxic tests showed that nanoparticle size increased cytotoxic activity. Ethyl acetate extract was most active compared to ethanol and n-hexane extracts with LC<sub>50</sub> values of 17,919; 84,956; 166,526 ppm. Whereas the nanoparticle size was respectively 10,491; 74,072 and 84,197 ppm. Cytotoxic activity increases with nanoparticle fabrication.

### Abstrak

Beberapa metabolit sekunder yang terdapat dalam laos merah adalah terpenoid, kuinon, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, diarilheptanoid, steroid, kardioglikosida, minyak dan lemak, tanin, karbohidrat. Aktivitas dari rimpang, daun dan bunga laos merah adalah sebagai antimikroba, anti jamur, anti oksidan, anti tumor, anti kanker dan vasodilator. Salah satu cara untuk meningkatkan sifat fisik, kimia dan bioaktivitas senyawa bahan alam adalah membuatnya menjadi nanopartikel. Pada penelitian ini, isolasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam rimpang laos merah dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol dilakukan, selanjutnya dipartisi dengan n-heksana dan etil asetat. Ekstrak yang diperoleh kemudian difabrikasi menjadi nanopartikel. Ekstrak dalam bulk dan nanopartikel kemudian diuji aktivitas sitotoksik menggunakan metode BSLT. Hasil analisis dengan PSA menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki ukuran 410,8 nm, ekstrak n-heksana 220,7 nm dan ekstrak etil asetat 208,3 nm. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ukuran nanopartikel meningkatkan aktivitas sitotoksik. Ekstrak etil asetat adalah paling aktif dibandingkan ekstrak etanol dan n-heksana dengan nilai LC<sub>50</sub> masing-masing 17,919; 84,956; 166,526 ppm. Sedangkan yang ukuran nanopartikel berturut-turut masing-masing sebesar 10,491; 74,072 dan 84,197 ppm. Aktivitas Sitotoksik meningkat dengan fabrikasi nanopartikel.

## 1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, yang khasiatnya telah dibuktikan oleh masyarakat luas. Pemanfaatan zat-zat kimia yang terkandung di dalam tumbuhan sangat penting, karena senyawa bahan alam yang aktif farmakologik yang digunakan sebagai obat umumnya efek sampingnya tidak ada atau ringan dibandingkan dengan obat dari senyawa sintetik. Selain itu sumber daya alam sebagai bahan awal mudah diperoleh dan diperbaharui [1, 2].

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat adalah lengkuas merah (1), termasuk suku *Zingiberaceae*. Rimpang lengkuas merah selama ini telah dimanfaatkan untuk obat reumatik, penambah nafsu makan, panu, kadas, kurap, perut tidak enak, gangguan pernapasan pada anak dan stimulasi aromaticum [3].

Penelitian tentang lengkuas merah sudah banyak dilakukan [4]. Beberapa metabolit sekunder yang terdapat di dalam tanaman lengkuas adalah terpenoid [5], kuinon [6], flavonoid [7], alkaloid [8], diarilheptanoid, steroids, kardioglikosida, minyak dan lemak, tannin, karbohidrat [9].

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan aktivitas rimpang, daun dan bunga lengkuas merah, diantaranya antimikroba [10, 11], anti jamur, antioksidan [12], antitumor dan antikanker [13], vasodilator, anti TBC [14].

Penggalian senyawa-senyawa bahan alam dalam suatu tumbuhan umumnya berdasarkan pada pendekatan kemotaksonomi dengan hipotesis bahwa tumbuhan dengan jenis atau marga yang sama akan memiliki kandungan kimia sejenis atau bahkan sama. Dalam bidang medis, bahan alam memiliki kandungan senyawa-senyawa bioaktif yang digunakan secara luas untuk pengobatan, sehingga perlu peningkatan bioaktivitasnya untuk kegunaan yang lebih efektif dan efisien. Salah satu cara untuk meningkatkan sifat fisik, kimia dan bioaktivitas senyawa bahan alam adalah membuat nanopartikel. Nanopartikel memiliki sifat lebih ringan, lebih kuat dan memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga meningkatkan bioaktivitas senyawa dibandingkan bentuk bulk-nya [15]. Nanopartikel memiliki sifat-sifat yang unik, yaitu peningkatan adhesi ke dalam membran sel, peningkatan kecepatan pelarutan [16] dan Quantum dot effect [17]. Penelitian oleh [18] nanopartikel katekin memiliki aktivitas anti bakteri yang lebih tinggi daripada katekin bulk;nya terhadap *E coli* dan *S aureus*.

Basniwal dkk. [19] telah mempelajari bioaktivitas kurkumin terhadap *B subtilis* mengalami peningkatan setelah kurkumin berukuran nano dengan zona bening dari 15 mm menjadi 20 mm. Dengan demikian, aplikasi teknologi nano partikel dengan bioaktivitas suatu senyawa bahan alam memungkinkan dapat meningkatkan sifat bioaktivitasnya menjadi lebih baik daripada bentuk bulk-nya.

Berdasarkan keterangan di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap rimpang lengkuas merah, membandingkan bioaktivitas ekstraknya dalam bentuk *bulk* dan nano partikel.

Hasil Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi masyarakat pengguna obat tradisional, sehingga melengkapi pengetahuan khususnya rimpang lengkuas merah.

Penelitian yang akan dilakukan ini sesuai dengan road map penelitian di laboratorium kimia organik, dimana laboratorium kimia organik sedang mengembangkan mengenai eksplorasi senyawa alam terkait bidang kesehatan dan makanan.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat gelas standar penelitian, lampu UV 254 nm dan 365 nm, satu set alat maserator, plat tetes, Bunsen, rotary evaporator Buchii, akuarium, mikro pipet, pipet tetes, pipa kapiler, prosesor ultrasonik dan PSA (*Particle Size Analyzer*) Horiba SZ-100. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk rimpang laos merah, pelarut berderajat teknis: etanol, n-heksana, etil asetat, kloroform, bahan berderajat pa (E.Merck): Amonia, asam klorida, amil alkohol, feri klorida, asam sulfat pekat, anhidrida asetat, pereaksi Steasny, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorf dan telur *Artemia salina*, garam krosok, tween 20, aquabides dan *virgin coconut oil* (VCO).

### Persiapan Bahan

Sampel penelitian ini adalah rimpang lengkuas merah yang diperoleh dari daerah Jepara. Sebanyak 20 kg rimpang lengkuas merah dibersihkan dengan air untuk menghilangkan pengotor-pengotor kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dan dihaluskan hingga menjadi serbuk.

### Skrining Fitokimia

Serbuk rimpang lengkuas merah dilakukan skrining fitokimia yaitu uji steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin.

### Uji Alkaloid

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 5 gram dilembamkan dengan 5 mL ammonia 25%, lalu digerus dalam kurs porselin. Setelah itu, 20 mL kloroform dituang ke dalam hasil gerusan, digerus kuat-kuat dan disaring. Untuk pemeriksaan alkaloid, 10 mL larutan organik diekstraksi 2 kali dengan larutan asam klorida (1:10). Sebanyak 5 mL larutan ini masing-masing dituang ke dalam 2 tabung reaksi. Keberadaan alkaloid diuji dengan pereaksi Dragendroff maupun Meyer. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan merah bata dengan pereaksi Dragendroff.

### Uji Saponin

Serbuk rimpang lengkuas merah dididihkan dalam 100 mL air selama 5 menit, kemudian disaring dalam keadaan panas (Larutan A). Selanjutnya 10 mL larutan tersebut dikocok kuat-kuat secara vertikal selama 10 detik. Setelah kurang lebih 10 menit, ditetesi dengan asam klorida 2 N. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang pada penambahan satu tetes asam klorida 2 N menunjukkan positif adanya saponin.

### Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mL dari larutan A ditambahkan serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Jika timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, berarti positif adanya flavonoid.

### Uji Tanin

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 10 gram dididihkan dalam 10 mL air selama 5 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan besi (III) Klorida 1 %. Adanya tanin ditunjukkan dengan timbulnya warna biru kehitaman.

### Uji Triterpenoid dan Steroid

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 5 gram dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, kemudian disaring. Selanjutnya 5 mL filtrat diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Kemudian diberi 2 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru/hijau menunjukkan adanya steroid sedangkan terbentuknya warna merah/ungu menunjukkan adanya triterpenoid.

### Pembuatan Ekstrak Lengkuas merah

Serbuk Lengkuas merah seberat 1 Kg dimaserasi dengan etanol, setiap 24 jam pelarut diganti baru hingga pelarut jernih. Maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan Evaporator Buchii. Ekstrak etanol kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksana, sehingga diperoleh fraksi n-heksana. Ekstrak etanol selanjutnya dipartisi dengan pelarut etil asetat sehingga diperoleh fraksi etilasetat.

### Fabrikasi nanopartikel

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol, ditambah 6 mL akuabides dan 1 tetes VCO dilakukan ultrasonikasi menggunakan prosesor ultrasonik dengan tegangan 220 volt dan daya 50 watt dan frekuensi 40 KHz selama 30 menit. Analisis nanopartikel dilakukan menggunakan instrumen PSA (*Partical Size Analyzer*). Pekerjaan yang sama dilakukan pada ekstrak n-heksana dan etil asetat.

### Uji Sitotoksisitas

Untuk mengetahui sitotoksisitas ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat, baik dalam bentuk *bulk* maupun *nano* digunakan metode BSLT [20]. Sebanyak 38 gram garam krosok ditambahkan 1L aquades, kemudian disaring dan ditempatkan dalam aquarium yang terbagi menjadi 2 bagian (gelap dan terang). Pada bagian gelap

aquarium ditambahkan telur *Artemia salina*. Larva *Artemia salina* siap digunakan setelah umur 2 hari. Larutan ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dalam bentuk *bulk* dan nano masing-masing dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dimasukkan ke dalam botol vial. Ke dalam masing-masing botol vial ditambahkan 10 ekor larva *Artemia salina* dan diletakkan di bawah penerangan lampu selama 24 jam kemudian diamati kematian larva *Artemia salina*. Data yang diperoleh kemudian diproses dengan program komputer *probit analysis* untuk menentukan harga  $LC_{50}$  nya.

## 3. Hasil Dan Pembahasan

### Pembuatan Ekstrak Etanol, n-heksana dan Etil asetat

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 400 gram dimaserasi menggunakan etanol beberapa kali pengulangan, maserat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Dari ekstrak etanol dipartisi menggunakan n-heksana dan dilanjutkan etil asetat. Hasil ekstrak etanol, n-heksana, dan etil asetat dapat ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1: Hasil ekstraksi rimpang lengkuas merah dengan pelarut etanol, n-heksana dan etilasetat

Ekstrak	Berat ekstrak	Rendemen
Etanol	1,02 gram	0,255 %
n-heksana	0,41 gram	0,1025 %
Etil asetat	0,99 gram	0,25 %

Dari ke tiga ekstrak masing-masing difabrikasi menjadi nanopartikelnya, selanjutnya diuji aktivitas sitotoksik menggunakan metode BSLT.

### Fabrikasi Nanopartikel Ekstrak Etanol, n-heksana dan Etil asetat

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat menggunakan metode sonikasi bertujuan untuk mengetahui ukuran ekstrak yang telah berukuran nano menggunakan alat PSA, serta membandingkan kemampuan bioaktivitasnya sebelum dan setelah berukuran nano. Metode sonikasi menggunakan aquabides pada proses pemancaran ultrasonik akan mengalami sonolisis. Molekul  $H_2O$  terjadi kavitasasi yang akan mengalami proses pembentukan, pertumbuhan, dan pemecahan gelembung dalam sistem koloid. Pembentukan gelembung terjadi karena adanya pemutusan ikatan antara atom H dan OH pada molekul aquabides, sedangkan pertumbuhan gelembung terjadi karena uap-uap yang dihasilkan zat terlarut ekstrak dan  $H_2O$  berdifusi di dalam gelembung. Selanjutnya partikel-partikel tersebut akan mengelilingi permukaan gelembung, pada keadaan maksimum gelembung akan pecah dan membentuk partikel - partikel yang berukuran kecil (nano) [21]. Nanopartikel ekstrak n-heksana yang dihasilkan dari fabrikasi dapat ditentukan ukurannya. Hasil pengukuran menggunakan PSA ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat diajikan pada tabel 2.

Tabel 2: Pengukuran hasil fabrikasi nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dengan PSA

Ekstrak	Ukuran (nm)
Etanol	410,8
n-heksana	220,7
Etil asetat	208,3

Hasil yang diperoleh dari fabrikasi nanopartikel masih kurang baik karena ukuran yang dihasilkan sekitar 200 – 400 nm. Hal ini kemungkinan kurangnya waktu yang digunakan untuk ultrasonikasi.

**Uji Aktivitas Sitotoksik**

Hasil yang diperoleh dari pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, n-heksana, dan etil asetat dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3: Hasil uji sitotoksitas ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat rimpang lengkuas merah

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Nauphilus uji	1		2		3	
			mati	hidup	mati	hidup	mati	Hidup
Kontrol	0	30	0	10	0	10	0	10
Ekstrak Etanol	10	30	2	8	3	7	1	9
	100	30	8	2	5	5	7	3
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Ekstrak n-heksana	10	30	2	8	3	7	1	9
	100	30	4	6	3	7	4	6
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Ekstrak Etil Asetat	10	30	3	7	2	8	2	8
	100	30	10	0	10	0	10	0
	1000	30	10	0	10	0	10	0

Berdasarkan data yang diperoleh, hasil analisis probit menggunakan program SPSS, aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, n-heksana, dan etil asetat menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 84,956 ppm, 166,526 ppm dan 17,919 ppm. Dari data ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat yang paling aktif, disusul etanol, kemudian ekstrak n-heksana. Adapun hasil uji sitotoksik terhadap nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4: Hasil uji sitotoksitas nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat lengkuas merah

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Nauphilus uji	1		2		3	
			Mati	Hidup	Mati	Hidup	mati	Hidup
Kontrol	0	30	0	10	0	10	0	10
Nanopartikel Ekstrak Etanol	10	30	3	7	3	7	4	6
	100	30	7	3	8	2	8	2
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Nanopartikel Ekstrak n-heksana	10	30	0	10	0	10	2	8
	100	30	8	2	6	4	5	5
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Nanopartikel Ekstrak Etil Asetat	10	30	4	6	3	7	7	3
	100	30	10	0	10	0	10	0
	1000	30	10	0	10	0	10	0

Berdasarkan data yang diperoleh, hasil analisis probit aktivitas menggunakan program SPSS, aktivitas sitotoksik ekstrak nanopartikel etanol, n-heksana, dan etil asetat menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 74,072 ppm, 84,197 ppm dan 10,491 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak teraktif adalah nanopartikel ekstrak etil asetat, kemudian etanol dan kemudian nanopartikel n-heksana, urutan aktivitas sitotoksiknya sama seperti pada tabel 3.

Perbandingan harga LC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dalam ukuran *bulk* dan ukuran *nano* disajikan pada tabel 5 berikut.

Tabel 5: Perbandingan harga LC<sub>50</sub> ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dalam ukuran *bulk* dan ukuran *nano*

Ekstrak	Harga LC <sub>50</sub>	Ekstrak nano	Harga LC <sub>50</sub>
etanol	84,956	etanol	74,072
n-heksana	166,526	n-heksana	84,197
Etil asetat	17,919	Etil asetat	10,491

Hasil yang diperoleh pada nanopartikel ekstrak n-heksana memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang lebih kecil dibandingkan ekstrak n-heksana yang berukuran *bulk*. Hal ini disebabkan senyawa yang berukuran *nano* memiliki luas permukaan yang kecil sehingga akan mengalami peningkatan kemampuan bioaktivitas karena adanya suatu pengaruh dimana atom akan naik ke permukaan ketika materi berukuran 1-100 nm, sehingga larutan akan dipengaruhi oleh sifat-sifat permukaannya yaitu ukuran dan bentuk bukan komposisi larutannya [22].

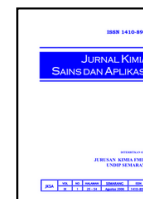
**4. Kesimpulan**

Hasil pengukuran PSA diperoleh pada ekstrak etanol sebesar 410,8; n-heksana sebesar 220,7 dan etil asetat sebesar 208,3nm. Pada uji sitotoksik dengan metode BSLT ukuran *nano* meningkatkan aktivitas sitotoksiknya baik pada ekstrak etanol, n-heksana maupun etil asetat. Ekstrak etil asetat paling aktif dibandingkan ekstrak etanol dan n-heksana dengan harga LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 17,919; 84,956; 166,526 ppm sedangkan yang ukuran *nano* masing-masing sebesar 10,491; 74,072 dan 84,197 ppm.

**5. Daftar Pustaka**

- [1] Ayu Ni'mah Azifa, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah, Identifikasi Senyawa Sitotoksik dalam Ekstrak Kloroform Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan GC-MS, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 1, (2014) 23-26
- [2] Ika Pratiwi Khosimah Adinata, Khairul Anam, Dewi Kusriani, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Aktif Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Uji Aktivitas Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 2, (2013) 42-45
- [3] PN Ravindran, I Balachandran, Under utilized medicinal spices, *Spice India*, 17, 12, (2004) 2-14
- [4] Fajar Budi Laksono, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Isolasi dan Uji Antibakteri Senyawa Terpenoid Ekstrak N-Heksana Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 2, (2014) 37-42
- [5] Yuharmen, Yum Eryanti, Nurbalatif, Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*), FMIPA, Universitas Riau, Riau
- [6] Chinthamony Arul Raj, Paramasivam Ragavendran, Dominic Sophia, Muthaiyan Ahalliya Rathi, Velliyyur Kanniappan Gopalakrishnan, Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of *Alpinia purpurata*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10, 4, (2012) 263-268 [http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(12\)60053-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(12)60053-3)

- [7] CP Victório, RM Kuster, CLS Lage, Detection of flavonoids in *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. leaves using high-performance liquid chromatography, *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 11, 2, (2009) 147-153
- [8] Ratna Susilaningih, Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*), Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [9] Enock Kiage Oirere, Palanirajan Anusooriya, Chinthamony Arul Raj, Velliyur Kanniappan Gopalakrishnan, Phytochemical Analysis of N-Hexane Leaf Extract of *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum Using Uv-Vis, FTIR and GC-MS, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7, 8, (2015) 387-389
- [10] Yuharmen, Yum Eryanti, Nurbalatif, Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*), in, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau, 2002.
- [11] KP Kochuthressia, S John Britto, MO Jaseentha, L Joelri Michael Raj, SR Senthilkumar, Antimicrobial efficacy of extracts from *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. against human pathogenic bacteria and fungi, *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 6, (2010) 1249-1252 <http://dx.doi.org/10.5251/abjna.2010.1.6.1249.1252>
- [12] T. Juntachote, E. Berghofer, Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal, *Food Chemistry*, 92, 2, (2005) 193-202 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.044>
- [13] Hideji Itokawa, Koichi Takeya, Antitumor substances from higher plants, *ChemInform*, 24, 52, (1993)
- [14] Cristiane Pimentel Victório, Ricardo Machado Kuster, Roberto Soares de Moura, Celso Luiz Salgueiro Lage, Vasodilator activity of extracts of field *Alpinia purpurata* (Vieill.) K: Schum and *A. zerumbet* (Pers.) Burt et Smith cultured in vitro, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45, 3, (2009) 507-514
- [15] R. Kelmani Chandrakanth, C. Ashjayothi, A. K. Oli, C. Prabhurajeshwar, Potential Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles Synthesised from *Enterococcus* Species, *Oriental Journal of Chemistry*, 30, 3, (2014) 1253-1262 <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300341>
- [16] Rainer H. Müller, Sven Gohla, Cornelia M. Keck, State of the art of nanocrystals – Special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78, 1, (2011) 1-9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.01.007>
- [17] Matthew N. Rhyner, Andrew M. Smith, Xiaohu Gao, Hui Mao, Lily Yang, Shuming Nie, Quantum dots and multifunctional nanoparticles: new contrast agents for tumor imaging, *Nanomedicine*, 1, 2, (2006) 209-217 <http://dx.doi.org/10.2217/17435889.1.2.209>
- [18] Huanhuan Li, Quansheng Chen, Jiewen Zhao, Khulal Urmila, Enhancing the antimicrobial activity of natural extraction using the synthetic ultrasmall metal nanoparticles, *Scientific reports*, 5, (2015) 11033 <http://dx.doi.org/10.1038/srep11033>
- [19] Rupesh Kumar Basniwal, Harpreet Singh Buttar, V. K. Jain, Nidhi Jain, Curcumin Nanoparticles: Preparation, Characterization, and Antimicrobial Study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5, (2011) 2056-2061 <http://dx.doi.org/10.1021/jf104402t>
- [20] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, J. L. McLaughlin, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med*, 45, 05, (1982) 31-34 <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- [21] Inbar Yariv, Anat Lipovsky, Aharon Gedanken, Rachel Lubart, Dror Fixler, Enhanced pharmacological activity of vitamin B12 and penicillin as nanoparticles, *International journal of nanomedicine*, 10, (2015) 3593
- [22] Stephanie M Reimann, Matti Manninen, Electronic structure of quantum dots, *Reviews of Modern Physics*, 74, 4, (2002) 1283



## Synthesis and Antibacterial Testing of Imina Derivative Compounds from Piperonal and Anilin

Dimas Syamsudin <sup>a</sup>, Ismiyanto <sup>a\*</sup>, Ngadiwiyanana <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [ismiyarto@live.undip.ac.id](mailto:ismiyarto@live.undip.ac.id)

### Article Info

Keywords:  
 synthesis, imine,  
 piperonal, aniline,  
 antibacterial

Kata kunci:  
 sintesis, imina,  
 piperonal, anilin,  
 antibakter

### Abstract

Synthesis of Imine derivatives used as antibacterial activity has been done. Synthesis was conducted by condensation reaction between piperonal and aniline. The product synthesis was characterized by melting point, LC-MS, FTIR and <sup>1</sup>H-NMR, then application of the product as antibacterial towards bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The product of synthesis was pale-brown solid, and had melting point at 56-61 °C. Identification by LC-MS showed the compound molecular weight was 225.30 gram/mol, identification by FTIR showed a compound contained imine C=N at 1620.21 cm<sup>-1</sup>, C-H aromatic at 1581.63 cm<sup>-1</sup>, C<sub>sp3</sub>-H at 2962.37 cm<sup>-1</sup> from CH<sub>2</sub>, and C-O at 1265.30 cm<sup>-1</sup>, Identification by <sup>1</sup>H-NMR showed a compound had a singlet peak at δ=6 ppm that proton was from the CH<sub>2</sub>, multiplet peak at δ=6.9-7.7 ppm proton from two aromatics and singlet peak at δ=8.4 ppm from proton imine. The minimum inhibitory concentration of the product towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was 1 mg/mL with diameter inhibition zone 2 mm and 3 mm. From these data it could be concluded that the compound 3,4- methylenedioxybenzilyimine was formed and it had ability as an antibacterial agent.

### Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang sintesis dan uji antibakteri senyawa turunan imina. Sintesis dilakukan melalui reaksi kondensasi antara piperonal dan anilin. Hasil sintesis dikarakterisasi dengan uji titik leleh, LCMS, spektroskopi FTIR dan <sup>1</sup>H-NMR, hasil sintesis diaplikasikan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil sintesis berbentuk padatan, berwarna coklat pucat dan mempunyai titik leleh 56-61°C. Identifikasi menggunakan LC-MS menunjukkan bahwa senyawa mempunyai berat molekul 225,30 gram/mol, identifikasi menggunakan FTIR menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis mengandung gugus fungsi imina C=N pada bilangan gelombang 1620,21 cm<sup>-1</sup>, serapan C-H aromatik pada bilangan gelombang 1581,63 cm<sup>-1</sup>, serapan pada bilangan gelombang 2962,37 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi C<sub>sp3</sub>-H dari CH<sub>2</sub> dan serapan C-O pada bilangan gelombang 1265,30 cm<sup>-1</sup>, sedangkan identifikasi dengan <sup>1</sup>H-NMR diketahui bahwa senyawa mempunyai puncak singlet pada δ=6 ppm merupakan proton dari CH<sub>2</sub>, puncak multiplet pada δ=6,9-7,7 ppm dari proton dua cincin aromatik dan puncak singlet pada δ=8,4 ppm dari proton imina. Nilai KHM produk sintesis turunan imina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah pada konsentrasi 1 mg/mL dengan diameter zona hambat masing-masing adalah 2 mm dan 3 mm. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa produk sintesis turunan imina 3,4-metilendioksibenzilimina telah terbentuk dan mempunyai kemampuan sebagai antibakteri.

## 1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang, disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan protozoa [1]. Imina merupakan senyawa dengan gugus fungsi C=N yang mempunyai potensi sebagai antibakteri [2], antikanker [3], antijamur, antitumor dan antimalaria [4]. Sintesis turunan imina dari vanilin dan 4-aminoantipirin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Melihat potensinya yang besar, maka penelitian tentang imina perlu dikembangkan, sehingga dapat mempunyai aktivitas yang tinggi dan lebih stabil [5].

Schmeyers *dkk.* [6], telah melakukan penelitian sintesis imina, dimana reaksi dilakukan pada suhu kamar selama 30 menit. Hania [7] berhasil mensintesis senyawa imina menggunakan bahan dasar anilin dan benzaldehid, reaksi dilakukan dengan pemanasan selama dua jam dan dihasilkan produk dengan titik leleh 50-52 °C dan randemen 60%. Secara umum, imina merupakan hasil reaksi kondensasi antara aldehida dan amina. Aldehid aromatik seperti piperonal dengan amina primer akan menghasilkan imina yang stabil [8], karena akan menghasilkan produk dengan cincin aromatik dan ikatan rangkap yang terkonjugasi. Konsep reaksi tersebut dapat digunakan untuk sintesis imina dari piperonal dan anilin.

Piperonal merupakan suatu aldehida aromatik tanpa H $\alpha$  yang memiliki kemiripan struktur dengan benzaldehid. Sedangkan anilin merupakan amina primer yang merupakan suatu nukleofil yang dapat menyerang gugus karbonil suatu aldehid atau keton, sehingga pada penelitian dapat digunakan sebagai alternatif pembuatan senyawa turunan imina. Piperonal mempunyai gugus metilendioksi (-O-CH<sub>2</sub>-O-), dimana menurut Alam [9] senyawa yang mengikat gugus metilendioksi(-O-CH<sub>2</sub>-O-) berpotensi mampu meningkatkan aktivitas antibakteri.

Reaksi imina (imina) dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu, pH, dan waktu reaksi yang digunakan. Salah satu keberhasilan reaksi imina adalah waktu reaksi. Dalam penelitian ini dilakukan variasi waktu reaksi yang digunakan. Berdasarkan uraian tersebut, untuk menghasilkan produk sintesis imina yang optimal perlu ditentukan waktu reaksi, sehingga memperoleh randemen yang optimal dan mempunyai kemampuan sebagai antibakteri.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas untuk sintesis, lempeng KLT silika gel, *spectronic 20*, seperangkat alat untuk uji antibakteri, LCMS (*liquid chromatography mass spectroscopy*), spektrometer FTIR (Shimadzu) dan spektrometer <sup>1</sup>H-NMR. Bahan yang dipergunakan adalah anilina p.a., piperonal p.a., etanol 96%, asam klorida, kloroform, magnesium sulfat anhidrat, *tween 20*, seperangkat bahan uji antibakteri, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherihia coli*.

### Pengaruh waktu reaksi sintesis turunan imina dari piperonal dan anilin.

Piperonal 3,006 g (0,02 mol) dilarutkan dalam 20 mL etanol. Pelarutan dilakukan dalam labu leher tiga volume 250 mL yang dilengkapi dengan pendingin, pengaduk magnetik dan termometer. Setelah piperonal larut, ditambahkan 0,03 mol larutan anilin berlebih sampai larutan homogen kemudian ditambahkan HCl 1 M. Reaksi dilakukan pada suhu kamar dengan variasi waktu 50, 70, 90, 110, 130 dan 150 menit. Campuran kemudian diekstraksi, fraksi yang terbentuk dipisahkan dan dikeringkan. Filtratnya diuapkan dengan *rotary evaporator*. Kemudian hasil yang terbentuk dikeringkan dan diukur titik lelehnya. Analisis dengan LC-MS, spektroskopi FTIR dan <sup>1</sup>H-NMR.

### Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan stok bakteri, bakteri uji dibiakkan pada media cair selama 24 jam pada suhu 35-37 °C, kemudian diambil dengan ose dan disuspensikan dengan cara memasukkan kedalam 10 mL air suling steril. Suspensi yang terbentuk disetarakan pada transmitans 25% dengan panjang gelombang 580 nm.

### Pengujian antibakteri

Sebanyak 0,1 mL inokulum bakteri dimasukkan kedalam cawan petri steril, setelah itu dituang media *Nutrient Agar* sebanyak 20 mL dengan suhu 40-50°C. Selanjutnya cawan digoyang diatas permukaan meja, agar media dan suspensi tercampur rata. Cakram kertas berdiameter 6 mm dicelupkan ke dalam produk sintesis dengan konsentrasi 100 mg/mL, 50 mg/mL, 10 mg/mL, 5 mg/mL, 1 mg/ mL dan 0,5 mg/mL. Kontrol yang digunakan *tween-20* 55mg/mL (kontrol negatif) dan tetrasiklin 0,1 mg/mL (kontrol positif) dibiarkan 15 menit. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 36 ± 1°C selama 18-24 jam, setelah itu diukur diameter daerah hambatan (zona jernih) pertumbuhan disekitar cakram kertas

## 3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, perlu dilakukan uji kemurnian turunan imina sebagai starting material yang dilihat dari pengukuran profil KLT. Harga Rf ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1 : Harga Rf senyawa turunan imina

No	Jenis pelarut	Rf sintesis imina
1	Kloroform	0,62
2	benzena	0,48

Dari hasil uji kemurnian senyawa turunan imina, dapat disimpulkan bahwa senyawa turunan imina cukup murni.

Dalam penelitian ini, senyawa turunan imina ini disintesis melalui reaksi kondensasi antara piperonal dan aniline dengan reaksi adisi dan eliminasi. Dalam sintesis ini menggunakan katalis asam, yaitu HCl,



karena reaksi pembentukan imina dipengaruhi oleh kondisi pH 3-4. Apabila pH terlalu asam akan mempengaruhi tahap eliminasi berjalan lebih cepat sedangkan apabila pH kurang asam tahap eliminasi menjadi lambat karena konsentrasi asam mempengaruhi protonasi gugus OH. Sehingga akan mempengaruhi turunan imina yang dihasilkan. Sintesis ini dilakukan pada suhu kamar dengan variasi waktu reaksi seperti pada tabel 2.

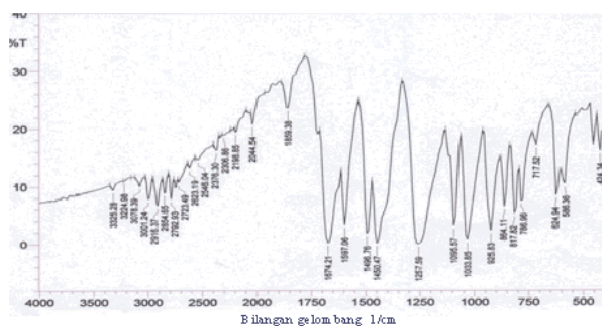
Pengaruh waktu reaksi terhadap produk sintesis (tabel 2) menunjukkan bahwa waktu optimal terjadi pada waktu reaksi 130 menit dengan randemen sebesar 62,53%. Pada waktu reaksi di bawah 130 menit imina belum memberikan hasil yang maksimal, karena reaksi belum berlangsung secara sempurna. Sedangkan pada waktu reaksi setelah 130 menit terjadi penurunan produk sintesis. Fenomena ini disebabkan imina yang telah terbentuk dapat bereaksi kembali, dengan terjadinya protonasi oleh H<sup>+</sup>, sehingga menghasilkan karbon parsial positif yang dapat diserang oleh nukleofil yang ada dalam campuran produknya, antara lain ion (OH)<sup>-</sup>, air dan sisa anilin, sehingga akan mengurangi produk yang dihasilkan [8].

Tabel 2: Pengaruh waktu reaksi terhadap produk sintesis

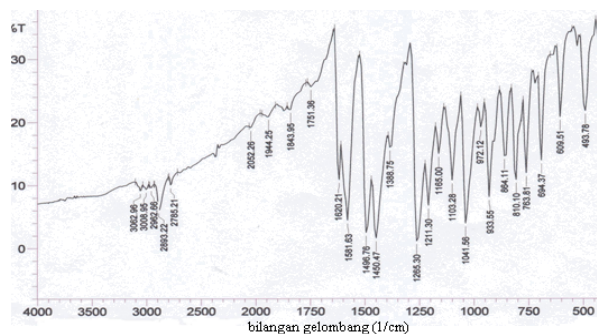
No	Waktu reaksi (menit)	Titik leleh (°C)	Produk (gram)	Randemen (%)
1	50	60	1,310	29,07
2	70	60	1,371	30,43
3	90	61	2,596	57,62
4	110	56	2,778	61,88
5	130	59	2,817	62,53
6	150	59	2,396	53,18

Hasil Spektra FTIR

Spektra FTIR dari piperonal ditunjukkan pada gambar 1 dan hasil spektra FTIR dari turunan imina ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 1. FTIR Piperonal



Gambar 2. FTIR 3,4-metilendioksibenzilimina

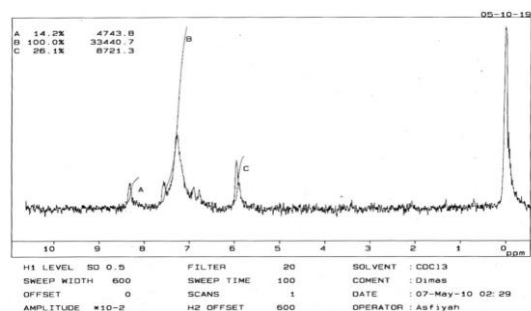
Tabel 3 : Data FTIR antara piperonal dan produk hasil sintesis

No	Gugus	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	
		Piperonal	Produk sintesis
1	C=O aldehyd	1674,21; 2792,93; 2854,65	-
2	imina	-	1620,21; 2893,22
3	C-H aromatik	1597,06 786,86; 817,2; 864,11	1581,63 694,37; 763,81; 810,10 ; 884,11
4	C-O	1257,59	1265,30
5	C(sp <sup>3</sup> )-H ( CH <sub>2</sub> )	2916,37; 1450,47	2962,37; 1450,47
6	C(sp <sup>2</sup> )-H	3078, 39	3062,96

Berdasarkan data spektra FTIR tersebut, terjadi perbedaan serapan yang dihasilkan sebelum maupun sesudah reaksi, dimana sebelum reaksi terdapat gugus karbonil (C=O) sedangkan sesudah reaksi terdapat penambahan gugus imina (C=N) dan pengurangan gugus karbonil (C=O) pada produk sintesis. Dengan adanya gugus-gugus tersebut, berarti senyawa imina yang diharapkan telah terbentuk.

Hasil Spektra <sup>1</sup>H-NMR

Karakterisasi menggunakan spektroskopi <sup>1</sup>H-NMR. Pengujian menggunakan <sup>1</sup>H-NMR dilakukan untuk mengetahui jumlah proton yang dimiliki oleh senyawa produk sintesis berdasarkan lingkungan elektroniknya. Hasil <sup>1</sup>H-NMR ditunjukkan pada gambar 3 dan tabel 4.



Gambar 3. Spektra <sup>1</sup>H-NMR 3,4-metilendioksibenzilimina

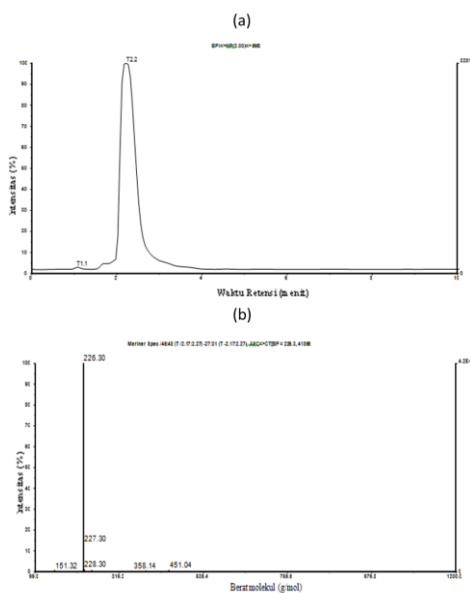
Spektra <sup>1</sup>H-NMR 3,4-metilendioksibenzilimina terlihat bahwa senyawa hasil sintesis yang diperoleh menunjukkan tiga buah signal yang terpisah. Hal ini disebabkan adanya tiga proton yang memiliki tiga lingkungan elektronik yang berbeda dengan perbandingan proton 1:8:2. Perbandingan ini diinterpretasikan sebagai perbandingan jumlah proton yang terdapat dalam senyawa hasil sintesis. Adanya puncak multiplet pada δ = 6,9-7,7 ppm merupakan ciri khas dari proton hidrogen aromatik. Munculnya puncak singlet sekitar δ = 8,4 ppm merupakan proton yang berasal dari gugus imina (1H, -CH=N) sedangkan adanya puncak singlet pada δ = 6 ppm merupakan proton dari gugus metilen (CH<sub>2</sub>). Data <sup>1</sup>H-NMR 3,4-metilendioksibenzilimina dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4: Data <sup>1</sup>H-NMR 3,4-metilendioksibenzilimina

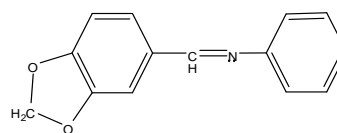
No	Sinyal	Pergeseran Kimia δ (ppm)	Jumlah dan Kedudukan atom H
A	Singlet	8,4	1 H dari CH=N
B	Multiplet	6,9-7,7	8 H dari C-H aromatik
C	Singlet	6	2 H dari CH <sub>2</sub>

Kromatogram dan spektrogram turunan imina ditunjukkan pada gambar 4.

Kromatogram (A) menunjukkan adanya 2 puncak dengan waktu retensi (R<sub>t</sub>) dan luas puncak (%) berturut-turut: puncak 1, R<sub>t</sub> 1,05 menit (3%) dan puncak 2, t<sub>R</sub> 2,22 menit (97%), berarti senyawa hasil sintesis tersebut dapat dianggap telah murni. Spektra massa (B) yang diperoleh memperlihatkan adanya berat molekul pada m/z 226.30 [M+H]<sup>+</sup>, yang merupakan puncak dengan intensitas tertinggi (97%). Berarti berat molekul senyawa hasil sintesis adalah 226,30-1=225,30 mengindikasikan berat molekul m/z 225,30 [M<sup>+</sup>] yang identik dengan struktur 3,4-metilendioksibenzilimina (C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>O<sub>2</sub>N) seperti pada gambar 5.



Gambar 4. Kromatogram (A) dan spektrogram (B) 3,4-metilendioksibenzilimina



Gambar 5. 3,4-metilendioksibenzilimina

Hasil Uji Antibakteri

Tabel 5: Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

No	Konsentrasi (mg/mL)	Diameter Hambat (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	100	11,67	12,67
2	50	9,67	10,67
3	10	6	7,33
4	5	3	3,67
5	1	2	3
6	0,5	-	-
7	Tetrasiklin 0,1	10,33	10,67
8	kontrol negatif	-	-

Keterangan:

(-) : tidak memberikan hambatan

Kontrol positif : tetrasiklin 0,1 mg/ml

Kontrol negatif : tween-20 55 mg/m

Hasil uji antibakteri turunan senyawa imina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditunjukkan pada tabel 5. Pada Tabel 5, terlihat bahwa produk sintesis turunan imina memberikan batas daerah hambatan dengan diameter 2 mm pada konsentrasi 1 mg/mL untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan diameter 3 mm pada konsentrasi 1 mg/mL pada konsentrasi 1 mg/mL untuk bakteri *Escherichia coli*. Dari tabel diatas terlihat bahwa diameter zona hambat semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi produk sintesis 3,4 metilendioksibenzilimina, sehingga dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa Produk sintesis 3,4-metilendioksibenzilimina memiliki KHM pada konsentrasi 1 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

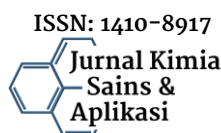
4. Kesimpulan

Senyawa turunan imina dari piperonal dan anilin dapat disintesis melalui reaksi imina dan pengaruh waktu reaksi selama 130 menit menghasilkan produk optimal yaitu 62,53%. Senyawa turunan imina mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

5. Daftar Pustaka

[1] JM Gibson, Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk perawat, Terjemahan dan Modern Microbiology and Pathology for Nurses, oleh Soma Prasada. EGC, Jakarta, (1996)

- [2] Neeraj Kumar Fuloria, Vijender Singh, M. Shaharyar, Mohammed Ali, Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel imines and thiazolidinones, *Acta Poloniae Pharmaceutica & Drug Research*, 66, 1, (2009) 141-146
- [3] Amjid Iqbal, Hamid Latif Siddiqui, CM Ashraf, Matloob Ahmad, George W Weaver, Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Azomethine Derivatives Derived from 2-Formylphenoxyacetic Acid, *Molecules*, 12, 2, (2007) 245-254 <http://dx.doi.org/10.3390/12020245>
- [4] Sandra S Konstantinović, Budimir V Konstantinović, Jasmina M Jovanović, Synthesis and structure of vanillin azomethines, *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ*, 15, 4, (2009) 279-281 <http://dx.doi.org/10.2298/CICEQ0904279K>
- [5] B Soekardjo, S Hardjono, R Sondakh, Hubungan struktur-aktivitas obat antibiotika. Dalam: Siswandono & Soekardjo. B, *Kimia Medisinal*, 2, (2000)
- [6] Jens Schmeyers, Fumio Toda, Juergen Boy, Gerd Kaupp, Quantitative solid-solid synthesis of azomethines, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 4, (1998) 989-994
- [7] Majed M Hania, Synthesis of some imines and investigation of their biological activity, *Journal of Chemistry*, 6, 3, (2009) 629-632
- [8] RJ Fessenden, JS Fessenden, *Kimia Organik*, diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, AH, jilid, 1, (1994) 209-210
- [9] Sayed Alam, Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some derivatives of 2-phenyl-chromen-4-one, *Journal of Chemical Sciences*, 116, 6, (2004) 325-331



## The Effect of $\text{KMnO}_4$ and $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ Concentrations on Electrical Production in Fuel Cell Microbial System with *Lactobacillus bulgaricus* Bacteria in a Tofu Whey Substart

Ilmi Muftiana<sup>a</sup>, Linda Suyati<sup>a\*</sup>, Didik Setiyo Widodo<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [linda\\_suyati@live.undip.ac.id](mailto:linda_suyati@live.undip.ac.id)

### Article Info

#### Keywords:

Microbial Fuel Cell (MFC), tofu whey, *Lactobacillus bulgaricus*,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$

#### Kata Kunci:

Microbial Fuel Cell (MFC), whey tahu, *Lactobacillus bulgaricus*,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$

### Abstract

Microbial Fuel Cell (MFC) is a bioelectrochemical system that utilize metabolism of microorganisms to produce electrical energy. Microbial fuel cell is a bioelectrochemical system involving redox reactions that required an oxidizing agent in the process. The purpose of this study was to determine the effect of various concentration of electrolyte solution  $\text{KMnO}_4$  and  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  on electricity produced by microbial fuel cell system with *Lactobacillus bulgaricus* in tofu whey substrate. The principle of this study was bioelectrochemistry that changes chemical energy into electrical energy which involves a redox reaction by utilizing microbes. This study used a microbe *Lactobacillus bulgaricus* and substrate tofu whey with 0.39 % carbohydrate content in dual chamber MFC system using a salt bridge as a conductor of protons from anode to cathode. Anode compartment contains a mixture of microbes that have been cultured and phosphate buffer with pH 7 while cathode compartment contained electrolytes  $\text{KMnO}_4$  or  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  in some various concentration that is 0.25 M; 0.2 M; 0.15 M; 0.1 M and 0.01 M with added potassium phosphate buffer pH 7. The MFC system using *Lactobacillus bulgaricus* and substrate tofu whey with 0.39% carbohydrate content and electrolyte solution  $\text{KMnO}_4$  generated maximum potential difference of 99.2 mV at concentration of 0.2 M which was higher than system with electrolyte solution  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  0.2 M that produced maximum potential difference of 48.6 mV.

### Abstrak

*Microbial fuel cell* merupakan sistem bioelektrokimia yang memanfaatkan metabolisme bakteri sehingga dapat menghasilkan listrik. *Microbial fuel cell* melibatkan reaksi reduksi dan oksidasi, sehingga diperlukan suatu oksidator dalam prosesnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh konsentrasi larutan elektrolit  $\text{KMnO}_4$  dan  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  terhadap listrik yang dihasilkan oleh sistem *microbial fuel cell* dengan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dalam substrat *whey* tahu. Prinsip dari penelitian ini adalah bioelektrokimia yaitu perubahan energi kimia menjadi energi listrik yang melibatkan reaksi redoks dengan memanfaatkan mikroba. Penelitian ini menggunakan mikroba *Lactobacillus bulgaricus* dan substrat *whey* tahu dengan kandungan karohidrat 0,39 % pada sistem MFC *dual chamber* dengan menggunakan jembatan garam sebagai penghantar proton dari anoda ke katoda. Kompartemen anoda berisikan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan substrat *whey* tahu dan ditambah buffer kalium fosfat pH 7, sedangkan kompartemen katoda berisikan elektrolit  $\text{KMnO}_4$  atau  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  dalam beberapa variasi konsentrasi yaitu 0,25 M; 0,2 M; 0,15 M; 0,1 M dan 0,01 M dengan ditambahkan buffer kalium fosfat pH 7. Sistem MFC menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* dan substrat *whey* tahu dengan konsentrasi karohidrat 0,39% dan larutan elektrolit  $\text{KMnO}_4$  menghasilkan beda potensial maksimum 99,2 mV yaitu pada konsentrasi 0,2 M yang lebih tinggi daripada dengan larutan elektrolit  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  0,2 M yang menghasilkan beda potensial maksimum 48,6 mV.

## 1. Pendahuluan

*Microbial Fuel Cell* (MFC) adalah salah satu sumber energi yang ramah lingkungan dan dapat menjadi sumber energi di masa depan. MFC mengubah energi kimia menjadi energi listrik melalui reaksi katalitik yang menggunakan mikroorganisme [1, 2]. Rangkaian MFC sama seperti *fuel cell* biasa yaitu tersusun dari anoda, katoda, dan larutan elektrolit, namun pada kompartemen anoda digunakan kultur mikroba yang akan melakukan metabolisme dengan menguraikan glukosa menjadi proton, elektron (e), dan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>). Elektron dari anoda akan dialirkan menuju katoda melalui sirkuit luar, dan proton berdifusi melalui jembatan garam menuju katoda [3, 4].

Berbagai cara dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi listrik pada sistem MFC, salah satunya adalah dengan menggunakan larutan elektrolit yang tepat dengan konsentrasi yang tepat. Menurut Jia *dkk.* [5], jenis larutan elektrolit yang digunakan pada kompartemen katoda dapat mempengaruhi produksi listrik yang dihasilkan oleh sistem MFC karena MFC merupakan sistem bioelektrokimia yaitu perubahan energi kimia menjadi energi listrik yang melibatkan reaksi redoks dengan memanfaatkan mikroba sehingga pada kompartemen katoda diperlukan suatu oksidator yang berperan sebagai penangkap elektron dari kompartemen anoda. Beberapa jenis elektrolit (oksidator) yang digunakan dalam kompartemen katoda dalam sistem MFC antara lain KMnO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> dan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>].

Penggunaan kalium permanganat untuk sistem MFC dengan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* telah dilakukan oleh Arbianti *dkk.* [6] yaitu dengan menggunakan substrat glukosa, selain menggunakan KMnO<sub>4</sub> pada penelitian tersebut juga menggunakan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], hasil yang diperoleh yaitu *power density* untuk sistem MFC dengan KMnO<sub>4</sub> 33,5% lebih besar daripada sistem MFC yang menggunakan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. Wei *dkk.* (2012) melaporkan bahwa konsentrasi K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] yang digunakan sebagai larutan elektrolit untuk *microbial fuel cell* dengan menggunakan bakteri *Clostridium pasteurianum* berpengaruh terhadap energi listrik yang dihasilkan

KMnO<sub>4</sub> merupakan suatu oksidator kuat dengan potensial reduksi standar 1,70 V sehingga menjadikan KMnO<sub>4</sub> sering digunakan sebagai asektor elektron dalam suatu sistem elektrokimia termasuk dalam sistem MFC [7]. K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] merupakan suatu oksidator yang bersifat elektroaktif yang mampu menangkap elektron dengan baik dengan harga potensial standar sebesar 0,36 V. Keuntungan menggunakan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] sebagai larutan elektrolit pada sistem MFC yaitu dihasilkan overpotensial yang rendah apabila menggunakan elektroda karbon. Berdasarkan uraian, maka dalam penelitian ini whey tahu dijadikan sebagai substrat dalam sistem MFC menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* dan dilakukan pengujian pengaruh jenis dan konsentrasi larutan elektrolit yaitu KMnO<sub>4</sub> (kalium permanganat) dan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] (kalium ferisianida).

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Reaktor MFC, Multimeter Digital Heles UX-838TR, Kabel Jepit Buaya, Timbangan Digital, Inkubator, Lemari pendingin, Pipet Mikro, Jarum Ose, Kertas pH, Peralatan gelas laboratorium. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kultur Mikroba *Lactobacillus bulgaricus*, Whey tahu, Susu sapi, Susu kedelai, Laktosa, KCl, Serbuk agar, Grafit, Akuades, NaOH, HCl, K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], KMnO<sub>4</sub>, Buffer Kalium Fosfat

### Preparasi Mikroorganisme

Sebanyak 100 mL susu sapi disterilisasi selama 20 menit kemudian setelah didinginkan diinokulasi dengan ditambahkan 1 mL yoghurt yang mengandung *Lactobacillus bulgaricus* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-400 C. Sebanyak 100 mL susu kedelai disterilisasi selama 20 menit kemudian setelah dingin diinokulasi dengan ditambahkan 1 mL bakteri dari susu sapi yang telah diinkubasi sebelumnya, kemudian susu kedelai yang telah diinokulasi diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak 100 mL whey tahu yang telah diultrafiltrasi disterilisasi selama 20 menit kemudian setelah dingin diinokulasi dengan ditambahkan 20 µL bakteri dari susu kedelai yang telah diinkubasi sebelumnya, kemudian diinkubasi selama 24 jam.

### Preparasi Elektroda

Elektroda grafit direndam dalam HCl 1 M kemudian dicuci dengan akuades selanjutnya direndam dalam NaOH 1 M dan dicuci kembali dengan akuades sampai saat akan digunakan.

### Preparasi Jembatan garam

Sebanyak 250 mL KCl ditambah dengan 12,5 g serbuk agar kemudian dipanaskan sambil terus diaduk dan setelah agak mengental kemudian dimasukkan ke dalam pipa U dan didinginkan.

### Preparasi Larutan Elektrolit KMnO<sub>4</sub> dan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]

Pembuatan larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> dan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] masing-masing sebanyak 80 mL dengan konsentrasi 0,01 M ; 0,1 M ; 0,15 M ; 0,2 M ; 0,25 M. Larutan elektrolit dengan konsentrasi yang berbeda-beda kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam botol kaca dan ditambahkan 20 mL buffer fosfat dengan pH 7.

### Pengukuran Beda Potensial pada Sistem MFC

Kompartemen anoda diisi dengan 80 mL whey tahu yang telah diinokulasi dengan bakteri kemudian ditambah buffer fosfat sebanyak 20 mL dengan pH 7. Kompartemen katoda diisi dengan 80 mL KMnO<sub>4</sub> atau K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] dengan variasi konsentrasi 0,25 M ; 0,2 M ; 0,15 M ; 0,1 M ; 0,01 M dan ditambah dengan buffer fosfat sebanyak 20 mL. Kemudian dipasang elektroda grafit pada masing-masing kompartemen. Kemudian elektroda dihubungkan dengan multimeter digital dan diukur beda potensial yang muncul setiap satu jam sekali.

### 3. Hasil Dan Pembahasan

#### Reaksi Kompartemen Katoda dan Anoda

*Microbial Fuel Cell* (MFC) merupakan sistem bioelektrokimia yang mengubah energi kimia menjadi energi listrik dengan memanfaatkan metabolisme mikroba dan melibatkan reaksi reduksi dan oksidasi. Pada penelitian ini menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan substrat whey tahu. Pada preparasi mikroorganisme dilakukan dengan menginokulasikan bibit *Lactobacillus bulgaricus* dalam susu sapi. Media susu sapi berfungsi untuk tempat bertumbuhnya mikroba *Lactobacillus bulgaricus*, hal ini dikarenakan pada susu sapi mengandung laktosa sehingga mikroba dapat tumbuh, kemudian *Lactobacillus bulgaricus* diinokulasikan pada media susu kedelai, hal ini bertujuan untuk membiasakan mikroba dalam beradaptasi terhadap lingkungan barunya yaitu whey tahu, dimana di dalam whey tahu dan susu kedelai mengandung jenis karbohidrat yang sama yaitu rafinosa.

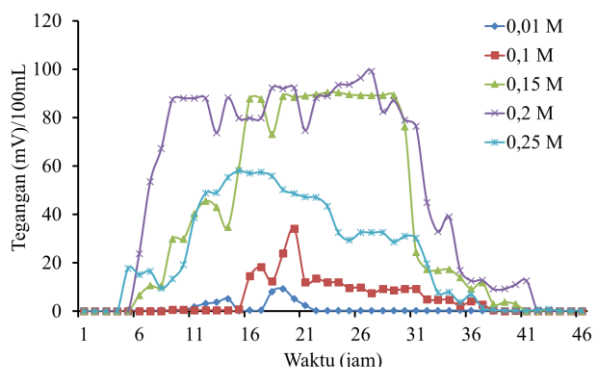
Elektron yang dihasilkan dari metabolisme mikroba akan ditransfer ke elektroda melalui membran plasma luar mikroba yang disebut dengan sitokrom, elektron dari anoda ditransfer ke katoda melalui sirkuit eksternal, sedangkan proton yang dihasilkan dari metabolisme akan ditransfer dari anoda ke katoda melalui jembatan garam. Jembatan garam yang digunakan adalah jembatan garam KCl sehingga proton (H<sup>+</sup>) akan dapat terdifusi karena jari-jari K<sup>+</sup> lebih besar daripada jari-jari H<sup>+</sup>. Proton dan elektron pada anoda akan digunakan untuk mereduksi Mn<sup>7+</sup> menjadi Mn<sup>4+</sup> apabila menggunakan larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> atau untuk mereduksi Fe<sup>3+</sup> menjadi Fe<sup>2+</sup> apabila menggunakan larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>].

#### Beda Potensial pada Variasi Konsentrasi Larutan Elektrolit KMnO<sub>4</sub>

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran beda potensial pada dua jenis larutan elektrolit dengan masing-masing lima konsentrasi yang berbeda, larutan elektrolit yang digunakan yaitu K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] (kalium ferisianida) dan KMnO<sub>4</sub> (kalium permanganat) dengan variasi konsentrasi masing-masing 0,01 M ; 0,1 M ; 0,15 M ; 0,2 M ; dan 0,25 M. Penggunaan variasi elektrolit ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh jenis elektrolit dan variasi konsentrasi elektrolit dalam menghasilkan beda potensial pada sistem MFC menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan substrat whey tahu.

Desain alat MFC yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sistem MFC *dual chamber* yang terdiri dari kompartemen anoda dan kompartemen katoda dengan volume masing-masing kompartemen sebesar 100 mL dan digunakan jembatan garam untuk menghubungkan kompartemen anoda dengan kompartemen katoda. Sistem MFC bekerja berdasarkan prinsip elektrokimia sehingga diperlukan elektroda pada kompartemennya, Elektroda yang digunakan pada penelitian ini adalah elektroda grafit.

Hasil pengukuran beda potensial dari sistem MFC menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dengan substrat whey tahu menggunakan larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> pada 5 variasi konsentrasi ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Beda potensial variasi konsentrasi larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub>

Berdasarkan Gambar 1 terlihat adanya perbedaan profil grafik beda potensial dari masing-masing konsentrasi larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> namun memiliki pola kenaikan dan penurunan yang hampir sama. Pola kenaikan dan penurunan grafik sesuai dengan fase pertumbuhan bakteri yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Beda potensial maksimum ditunjukkan pada sistem yang menggunakan substrat whey tahu dengan kandungan karbohidrat 0,39% dan larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> dengan konsentrasi sebesar 0,2 M yaitu menunjukkan hasil beda potensial maksimum sebesar 99,2 mV.

Beda potensial yang dihasilkan sistem dengan variasi konsentrasi larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> dapat dijelaskan melalui persamaan Nerst yaitu:

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[MnO_2]}{[MnO_4^-]}$$

Dari persamaan Nerst tersebut dapat diketahui bahwa potensial dari kompartemen katoda secara umum tergantung pada perbandingan konsentrasi MnO<sub>2</sub> dan MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>  $\frac{[MnO_2]}{[MnO_4^-]}$  oleh karena itu dengan adanya variasi konsentrasi maka akan dihasilkan beda potensial akhir yang bervariasi, hasil perhitungan secara teoritis menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan maka nilai  $\frac{[MnO_2]}{[MnO_4^-]}$  akan semakin kecil sehingga potensialnya semakin besar, oleh karena itu hasil penelitian menunjukkan bahwa beda potensial yang dihasilkan sistem MFC dengan larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> dengan konsentrasi 0,2 M menghasilkan beda potensial yang lebih tinggi dibanding dengan konsentrasi 0,01 M ; 0,1 M ; dan 0,15 M. Hasil perhitungan potensial pada kompartemen katoda dengan variasi konsentrasi menggunakan persamaan Nerst ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1: Data Hasil Perhitungan Potensial Katoda dengan elektrolit KMnO<sub>4</sub>

Konsentrasi KMnO <sub>4</sub> (M)	Potensial Kompartemen Katoda Hasil Perhitungan
0,01 M	1,66032 V
0,1 M	1,68018 V
0,15 M	1,683654 V
0,2 M	1,686132 V
0,25 M	1,688054 V

Untuk konsentrasi 0,25 M menghasilkan beda potensial yang rendah dibandingkan konsentrasi 0,2 M ; 0,15 M ; 0,1 M dan 0,01 M dan tidak sesuai dengan hasil perhitungan secara teoritis karena pada kenyataannya ada faktor lain yang mempengaruhi reaksi yang terjadi di kompartemen katoda, yaitu daya hantar larutan. Daya hantar larutan elektrolit KMnO<sub>4</sub> akan semakin meningkat dengan naiknya konsentrasi tetapi setelah mencapai konsentrasi tertentu daya hantarnya justru turun, hal ini dibuktikan dengan pengukuran daya hantar larutan KMnO<sub>4</sub> pada konsentrasi 0,01 M ; 0,1 M ; 0,15 M ; 0,2 M ; 0,25 M menunjukkan hasil pada Tabel 2

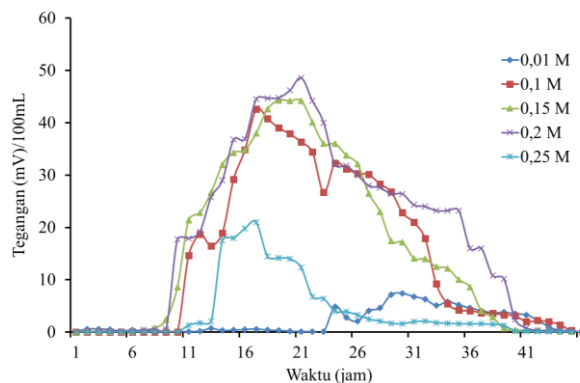
Tabel 2: Data Konduktivitas KMnO<sub>4</sub>

Konsentrasi KMnO <sub>4</sub> (M)	Konduktivitas (mho/cm)
0,01 M	2,0964 x 10 <sup>-5</sup>
0,1 M	2,4752 x 10 <sup>-5</sup>
0,15 M	3,2051 x 10 <sup>-5</sup>
0,2 M	5,1813 x 10 <sup>-5</sup>
0,25 M	2,1052 x 10 <sup>-5</sup>

Pada konsentrasi rendah yang berpengaruh terhadap konduktivitas adalah jumlah ion, apabila jumlah ion yang ada dalam suatu larutan semakin banyak maka akan semakin tinggi konduktivitasnya tetapi setelah mencapai konsentrasi tertentu semakin banyak ion yang ada dalam larutan mobilitas ion dalam larutan akan semakin berkurang sehingga nilai konduktivitas akan menurun.

**Beda Potensial pada Variasi Konsentrasi Larutan Elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]**

Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan elektrolit terhadap listrik yang dihasilkan oleh sistem MFC maka dilakukan juga pengukuran beda potensial yang dihasilkan oleh sistem MFC dengan variasi konsentrasi larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. Hasil pengukuran beda potensial dari sistem MFC menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dengan substrat whey tahu dengan kandungan karbohidrat 0,39% menggunakan larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] pada 5 variasi konsentrasi ditunjukkan pada Gambar 2.

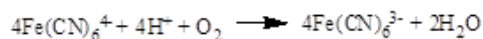
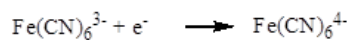


Gambar 2 Beda potensial variasi konsentrasi larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]

Sistem MFC dengan menggunakan larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] pada kompartemen katoda memanfaatkan K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] untuk menangkap elektron yang berasal dari anoda. Di dalam larutan, K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] mengalami ionisasi menjadi K<sup>+</sup> dan Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> sehingga di katoda akan terjadi reaksi sebagai berikut :



Selanjutnya ion Fe<sup>3+</sup> dari Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> akan tereduksi menjadi Fe<sup>2+</sup> dengan bantuan elektron yang berasal dari anoda. Kemudian ion Fe<sup>2+</sup> akan kembali teroksidasi oleh proton H<sup>+</sup> yang terdapat di katoda dengan bantuan oksigen. Berikut merupakan reaksi yang terjadi di katoda :



Pertemuan antara proton dan elektron tersebut menyebabkan terjadinya perbedaan potensial antara ujung-ujung elektroda di katoda dan anoda.

Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa beda potensial maksimum ditunjukkan pada sistem yang menggunakan substrat whey tahu dengan kandungan karbohidrat 0,39% dan larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] pada kompartemen katoda dengan konsentrasi sebesar 0,2 M yaitu sebesar 48,6 mV/100mL.

Dari Gambar 2 terlihat adanya perbedaan profil grafik beda potensial dari masing-masing konsentrasi larutan elektrolit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] hal ini dapat dijelaskan melalui persamaan Nerst yaitu

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Fe(CN)_6^{4-}]}{[Fe(CN)_6^{3-}]}$$

Dari persamaan Nerst tersebut dapat diketahui bahwa potensial kompartemen katoda secara umum tergantung pada perbandingan konsentrasi Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> dan Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup>  $\frac{[Fe(CN)_6^{4-}]}{[Fe(CN)_6^{3-}]}$  oleh karena itu dengan adanya variasi konsentrasi maka akan dihasilkan beda potensial akhir yang bervariasi, hasil perhitungan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan maka nilai  $\frac{[Fe(CN)_6^{4-}]}{[Fe(CN)_6^{3-}]}$  akan semakin kecil sehingga potensialnya semakin besar, yang ditunjukkan pada tabel 3

Tabel 3: Data Hasil Perhitungan Potensial Katoda dengan elektrolit  $K_3[Fe(CN)_6]$ 

Konsentrasi $K_3[Fe(CN)_6]$ (M)	Potensial Kompartemen Katoda Hasil Perhitungan
0,01 M	0,240956 V
0,1 M	0,300478 V
0,15 M	0,31096 V
0,2 M	0,31839 V
0,25 M	0,324165 V

Pada hasil percobaan menunjukkan bahwa beda potensial yang dihasilkan sistem MFC dengan larutan elektrolit  $K_3[Fe(CN)_6]$  dengan konsentrasi 0,2 M menghasilkan beda potensial yang lebih tinggi dibanding dengan konsentrasi 0,01 M ; 0,1 M ; dan 0,15 M, sedangkan untuk konsentrasi 0,25 M menghasilkan beda potensial yang rendah dikarenakan daya hantar larutan elektrolit  $K_3[Fe(CN)_6]$  akan semakin meningkat dengan naiknya konsentrasi tetapi setelah mencapai konsentrasi tertentu daya hantarnya justru turun, hal ini dibuktikan dengan pengukuran daya hantar larutan  $K_3[Fe(CN)_6]$  pada konsentrasi 0,01 M ; 0,1 M ; 0,15 m ; 0,2 m ; 0,25 menunjukkan hasil pada Tabel 4.

Tabel 4: Data Konduktivitas  $K_3[Fe(CN)_6]$ 

Konsentrasi $K_3[Fe(CN)_6]$ (M)	Konduktivitas (mho/cm)
0,01 M	$1,9531 \times 10^{-5}$
0,1 M	$2,0202 \times 10^{-5}$
0,15 M	$2,2675 \times 10^{-5}$
0,2 M	$3,7735 \times 10^{-5}$
0,25 M	$2,0202 \times 10^{-5}$

Beda potensial yang didapat pada penelitian ini tidak terlalu besar karena besar kecilnya beda potensial yang dihasilkan dari sistem MFC ini berkaitan dengan jumlah substrat yang tersedia untuk dijadikan sebagai sumber nutrisi dalam metabolisme sel dan sumber karbohidrat yang tersedia didalam *whey* tahu pada penelitian ini hanya sekitar 0,39%.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa jenis dan konsentrasi dari larutan elektrolit yang digunakan dalam sistem MFC berpengaruh terhadap beda potensial yang dihasilkan. Hal ini dibuktikan dengan mampu dihasilkannya beda potensial maksimum sebesar 48,6 mV/100 mL untuk sistem MFC dengan substrat *whey* tahu 0,39% dengan larutan elektrolit  $K_3[Fe(CN)_6]$  dan 99,2 mV/100mL untuk sistem dengan larutan elektrolit  $KMnO_4$ . Hasil ini menunjukkan bahwa larutan elektrolit  $KMnO_4$  dapat menghasilkan beda potensial yang lebih tinggi dibanding apabila menggunakan  $K_3[Fe(CN)_6]$ , hal ini karena harga potensial reduksi standar kalium permanganat lebih tinggi daripada kalium ferisianida yaitu sebesar 1,70 V sedangkan kalium ferisianida sebesar 0,36 V.

Konsentrasi larutan elektrolit yang digunakan juga berpengaruh terhadap besar kecilnya beda potensial

yang dihasilkan karena sesuai dengan persamaan Nerst, potensial pada kompartemen katoda dipengaruhi oleh konsentrasi larutan elektrolit yang digunakan, semakin tinggi akan semakin besar potensialnya namun pada hasil penelitian dengan konsentrasi larutan elektrolit 0,25 M untuk sistem MFC dengan substrat *whey* tahu 0,39% menghasilkan beda potensial yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi-konsentrasi dibawahnya, hal ini berhubungan dengan konduktivitas larutan, dikarenakan pada konsentrasi rendah yang berpengaruh terhadap konduktivitas adalah jumlah ion semakin banyak maka akan semakin tinggi konduktivitasnya tetapi setelah mencapai konsentrasi tertentu semakin banyak ion yang ada dalam larutan mobilitas ionnya akan semakin berkurang sehingga nilai konduktivitas akan menurun.

#### 4. Kesimpulan

Sistem MFC menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* dan substrat *whey* tahu dengan konsentrasi karbohidrat 0,39% dan larutan elektrolit  $KMnO_4$  0,2 M menghasilkan beda potensial 99,2 mV lebih tinggi daripada dengan larutan elektrolit  $K_3[Fe(CN)_6]$  0,2 M yang menghasilkan beda potensial 48,6 mV.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Enas Taha Sayed, Takuya Tsujiguchi, Nobuyoshi Nakagawa, Catalytic activity of baker's yeast in a mediatorless microbial fuel cell, *Bioelectrochemistry*, 86, (2012) 97-101 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioelechem.2012.02.001>
- [2] Irine Ayu Febiyanti, Ahmad Suseno, Priyono Priyono, Pengaruh Konsentrasi Surfaktan CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) pada Modifikasi Lempung dengan Oksida Besi sebagai Pemilar, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 3, (2013) 79-83
- [3] Shah K Chirag, BN Yagnik, Bioelectricity production using microbial fuel cell, *Research Journal of Biotechnology*, 8, 3, (2013) 84-90
- [4] Indri Yuliasuti, Pardoyo Pardoyo, Agus Subagio, Modification Effect of Carbon Nanotubes by LiCl (CNTs/LiCl) on the Electrical Conductivity Character, *JURNAL SAINS DAN MATEMATIKA*, 23, 1, (2015) 1-6
- [5] Qibo Jia, Liling Wei, Hongliang Han, Jianquan Shen, Factors that influence the performance of two-chamber microbial fuel cell, *International Journal of Hydrogen Energy*, 39, 25, (2014) 13687-13693 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.04.023>
- [6] Rita Arbianti, Tania Utami, Heri Hermansyah, Deni Novitasari, Ester Kristin, Ira Trisnawati, Performance optimization of microbial fuel cell (MFC) using *Lactobacillus bulgaricus*, *Makara Journal of Technology*, 17, 1, (2013) 32-38
- [7] Mike TL Tobing, Nor Basid Adibawa Prasetya, Khabibi Khabibi, Peningkatan Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Rajungan dengan Variasi Konsentrasi NaOH dan Lama Perendaman, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 14, 3, (2011) 83-88