

ISSN 1410-8917 e-ISSN 2597-9914



# **Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi**

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



Volume 21 | Issue 2 | April 2018 | pages 54-106

**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 2 Year 2018**  
**April 2018**

<a href="#"><u>Activity Test of Suji Leaf Extract (<i>Dracaena angustifolia</i> Roxb.) on in vitro cholesterol lowering</u></a>	54-58
Devina Ingrid Anggraini, Lily Fathrah Nabillah DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.54-58">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.54-58</a>	
<a href="#"><u>Decolorization of Remazol Black B Solution by PbO<sub>2</sub> Modified Fenton Method in a Scaled Up Reactor</u></a>	59-63
Muhamad Abduh Hasibuan, Didik Setiyo Widodo, Retno Ariadi Lusiana DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.59-63">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.59-63</a>	
<a href="#"><u>Isolation and Testing of Bacteria from Steroid Compounds obtained from Anting-anting Leaf (<i>Acalypha indica</i> L.)</u></a>	64-69
Ditya Vega Fauzia, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.64-69">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.64-69</a>	
<a href="#"><u>Bioelectricity of Various Carbon Sources on Series Circuit from Microbial Fuel Cell System using <i>Lactobacillus plantarum</i></u></a>	70-74
Mufid Ainun, Linda Suyati DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.70-74">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.70-74</a>	
<a href="#"><u>Zeolite and Charcoal as Potential Adsorbents in Tubs of Oxydation Ditch I and Oxydation Ditch II at Water Treatment and Composting Plant (WTCP) PT. Djarum Kudus</u></a>	75-79
Rissa Kharismawati, Redi Joko Prasetyo, Yayuk Astuti DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.75-79">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.75-79</a>	
<a href="#"><u>Chitosan succinate/PVA-PEG Membrane: Preparation, Characterization and Permeation Ability Test on Creatinine</u></a>	80-84
Retno Ariadi Lusiana, Vivi Dia Ahmad Sangkota, Sri Juari Santosa DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.80-84">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.80-84</a>	
<a href="#"><u>Interaction Studies Between Cyclic Peptide ADT-C<sub>3</sub> (Ac-CADTPC-NH<sub>2</sub>) with E-Cadherin Protein using the Molecular Docking Method Simulated on 120ns</u></a>	85-91
Parsaoran Siahaan, Vivitri Dewi Prasasty, Atiatul Manna, Dwi Hudiyantri DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.85-91">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.85-91</a>	
<a href="#"><u>Synthesis of Nano Chitosan as Carrier Material of Cinnamon's Active Component</u></a>	92-97
Ngadiwiyana Ngadiwiyana, Enny Fachriyah, Purbowatiningrum Ria Sarjono, Nor Basid Adiwibawa Prasetya, Ismiyanto Ismiyanto, Agus Subagio DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.92-97">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.92-97</a>	
<a href="#"><u>Natural Zeolite Modification using Dithizone and Its Application as Adsorbent of Cu(II)</u></a>	98-101
Agnidian Setyorini, Suhartana Suhartana, Pardoyo Pardoyo DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.98-101">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.98-101</a>	
<a href="#"><u>Effect of Acid on Natural Zeolite Dealumination on Indigo Carmine Adsorption Capability</u></a>	102-106
Nanik Sulistyowati, Sriyanti Sriyanti, Adi Darmawan DOI: <a href="https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.102-106">https://doi.org/10.14710/jksa.21.2.102-106</a>	



## Activity Test of Suji Leaf Extract (*Dracaena angustifolia* Roxb.) on in vitro cholesterol lowering

Devina Ingrid Angraini <sup>a\*</sup>, Lily Fathrah Nabillah <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Nasional Surakarta, Jl. Yos Sudarso No. 338 Dawung, Serangan, Surakarta 57155

<sup>2</sup> Fakultas Kesehatan Universitas MH Thamrin Jakarta

\* Corresponding author: [devina.ia@gmail.com](mailto:devina.ia@gmail.com)

Article Info	Abstract
<p><b>Keywords:</b>            Cholesterol,            Flavonoids, Suji            Leaves (<i>Dracaena            angustifolia</i> Roxb.),            Lieberman-            Burchard,            Remaseration</p>	<p>Cholesterol is a natural substance with physical characteristic similar to fat but has a steroidal group. The body requires cholesterol in normal amount; however, it will harm the body in excess amount. High cholesterol levels in the blood are dangerous because of the precipitation of cholesterol and other fatty substances resulting in atherosclerosis. Suji leaf (<i>Dracaena angustifolia</i> Roxb.) used as a natural dye has a high flavonoid content that is inferred to have cholesterol-lowering activity. This study aims to test the in vitro activity of suji leaf (<i>Dracaena angustifolia</i> Roxb.) extract in decreasing cholesterol level with various concentrations and to find the effective concentration (EC<sub>50</sub>). The method of extraction used was remaceration method with 70% ethanol solvent. Analysis of cholesterol-lowering activity was done by Lieberman-Burchard method by making variation of ethanol extract 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, and 800 ppm. The results showed the percentage of cholesterol-lowering activity by 33.62%, 36.15%, 46.61%, 56.39% and 64.05% respectively. Value of EC<sub>50</sub> activity of suji leaf extract is 632.50 ppm.</p>
<p><b>Kata Kunci:</b>            Kolesterol,            Flavonoid, Daun            Suji (<i>Dracaena            angustifolia</i> Roxb.),            Lieberman-            Burchard,            Remaserasi</p>	<p><b>Abstrak</b></p> <p>Kolesterol merupakan zat alamiah dengan sifat fisik serupa lemak tetapi mempunyai gugus steroida. Kolesterol dalam jumlah normal dibutuhkan oleh tubuh, namun dalam jumlah berlebih akan membahayakan tubuh. Kadar kolesterol yang tinggi di dalam darah berbahaya karena terjadi pengendapan kolesterol dan zat-zat lemak lainnya sehingga mengakibatkan aterosklerosis. Daun suji (<i>Dracaena angustifolia</i> Roxb.) yang digunakan sebagai pewarna alami mempunyai kandungan flavonoid yang cukup tinggi sehingga diduga mempunyai aktivitas penurun kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk uji aktivitas ekstrak daun suji (<i>Dracaena angustifolia</i> Roxb.) terhadap penurunan kadar kolesterol dengan berbagai variasi konsentrasi dan mencari nilai <i>effective concentration</i> (EC<sub>50</sub>). Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode remaserasi dengan pelarut etanol 70%. Analisis aktivitas penurunan kolesterol dilakukan dengan metode Lieberman-Burchard dengan membuat variasi ekstrak etanol 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, dan 800 ppm. Hasil penelitian menunjukkan persentase aktivitas penurunan kadar kolesterol secara berturut-turut sebesar 33,62%, 36,15%, 46,61%, 56,39% dan 64,05%. Nilai EC<sub>50</sub> aktivitas ekstrak daun suji yaitu 632,50 ppm.</p>

### 1. Pendahuluan

Gaya hidup masyarakat saat ini berubah sangat signifikan. Hal itu disebabkan karena semakin

rendahnya keseimbangan antara aktivitas dan olah raga terhadap pola makan masyarakat sehingga masalah kesehatan sering timbul. Salah satu perubahan gaya hidup yang terjadi yaitu perubahan pola makan

masyarakat yang seharusnya dijaga dengan mengkonsumsi makan-makanan yang sehat, namun saat ini banyak masyarakat yang lebih suka mengkonsumsi makanan cepat saji (*fast food*) yang banyak mengandung lemak jenuh [1].

Kolesterol merupakan zat alamiah dengan sifat fisik serupa lemak tetapi mempunyai gugus steroida [2]. Kolesterol merupakan bahan bangun esensial bagi tubuh untuk sintesis zat-zat penting, seperti membran sel dan bahan isolasi sekitar serat saraf, begitu pula hormon kelamin dan anak ginjal, vitamin D, serta asam empedu [3]. Kolesterol di angkut sebagai bagian dari struktur yang bernama lipoprotein. Ada beberapa jenis lipoprotein, tetapi dua jenis lipoprotein utama yang perlu kita perhatikan adalah lipoprotein berdensitas rendah atau *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan lipoprotein berdensitas tinggi atau *High Density Lipoprotein* (HDL).

Kadar kolesterol total yang tinggi akan membentuk aterosklerosis yang dapat menyebabkan hipertensi dan penyumbatan pada pembuluh darah otak, jantung, dan pembuluh darah tungkai [4]. Aterosklerosis merupakan suatu penyakit terbentuknya plak di dinding pembuluh arteri besar yang mengakibatkan menyempitnya rongga pembuluh darah dan menurunkan elastisitas pembuluh darah tersebut. Penyumbatan pada pembuluh darah otak akan menyebabkan penyakit serebrovaskular seperti stroke. Penyumbatan pada pembuluh darah jantung dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti jantung koroner. Sedangkan penyumbatan pembuluh darah tungkai menyebabkan penyakit pembuluh darah tepi yang sering terjadi pada kaki yang dapat menimbulkan keluhan nyeri, kram, dan ganren [5, 6].

Selama ini, pengobatan yang dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol adalah dengan menggunakan obat-obatan sintetik. Obat sintetik cenderung harganya mahal dan memiliki efek samping bila dikonsumsi. Hal tersebut mendorong berbagai usaha mencari alternatif penggunaan obat tradisional yang berasal dari tanaman obat.

Tanaman yang mengandung flavonoid berkhasiat untuk menurunkan kolesterol. Ochani dan D'Mello [7] meneliti tentang aktivitas antioksidan dan antihiperlipid (antikolesterol). Hasilnya ekstrak etanol *calyces* dan daun *H. Sabdariffa* mengandung polifenol dan flavonol yang secara signifikan mempunyai aktivitas antioksidan dan antihiperlipid (antikolesterol). Kandungan aktif yang diduga terdapat dalam daun suji adalah saponin dan flavonoid seperti kandungan yang terdapat pada ekstrak daun dan *calyces* pada *H. Sabdariffa* Linn sehingga diharapkan mampu menurunkan kolesterol.

Senyawa aktif flavonoid banyak manfaatnya bagi tubuh. Salah satunya yaitu flavonoid dapat digunakan sebagai penurun kolesterol dalam tubuh, flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner. Dengan terkikisnya kolesterol pada dinding pembuluh darah, maka tidak akan memicu timbulnya penyakit lain yang di akibatkan oleh kolesterol, seperti hipertensi, stroke dan jantung [8].

Untuk mendapatkan senyawa kimia flavonoid daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) dilakukan cara mengekstraksi dari simplisia daun tersebut menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan. Dengan alasan tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa daun suji dapat digunakan sebagai penurun kolesterol.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat gelas laboratorium dan instrumen yang digunakan meliputi: gelas kimia, gelas ukur, labu erlenmeyer bertutup asah, blender, tabung reaksi, cawan porselen, kuvet, pipet tetes, pipet volume, bulb, kertas saring, corong kaca, labu ukur, waterbath, rotary evaporator, neraca analitik Quadruple Beam Balance MB-311, dan Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-Vis 1600 Double Beam.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun suji kering, baku kolesterol 92,5%, etanol p.a., metanol, akuades, eter, etil asetat, serbuk seng, asam klorida pekat 37%, serbuk magnesium, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat,

### Persiapan Simplisia

Daun suji dipilih yang masih utuh atau tidak kemudian dibersihkan. Daun dicuci dengan air mengalir, setelah itu dikeringkan, dan dihancurkan menggunakan blender.

### Penyarian Simplisia

Simplisia daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) yang sudah diblender, ditimbang kurang lebih 50 gram, kemudian dimasukkan dalam bejana tertutup, lalu ditambahkan etanol 70% sebagai cairan penyari hingga simplisia terendam seluruhnya. Perendaman dilakukan selama 5 hari, sambil diaduk 3-4 jam perhari kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan untuk penyarian berikutnya. Serbuk simplisia disari kembali menggunakan cairan penyari baru dengan jumlah yang sama seperti yang pertama, hal tersebut dilakukan berulang selama 5 hari. Filtrat yang dihasilkan dijadikan satu dan diapakan selama 1 hari. Setelah diapakan dan disaring, filtrat dikumpulkan dan dipekatkan sampai diperoleh ekstrak kental.

### Identifikasi Flavonoid

#### Uji Flavonoid

Larutan diambil 0,5 ml ditambah dengan 5 ml amonia encer dan 5 ml asam sulfat pekat. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi kuning karena penambahan asam sulfat pekat [9].

#### Uji Shinoda

Pada serbuk dan ekstrak kental daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) dilarutkan dalam etanol, untuk larutan serbuk disaring terlebih dahulu. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan beberapa

tetes asam klorida pekat. Perhatikan terjadi perubahan warna jingga, merah muda atau merah [10].

**Penentuan Penurunan Kolesterol**

Dalam penelitian ini langkah pertama yaitu, ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) dibuat variasi konsentrasi 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, dan 800 ppm. Dari masing-masing konsentrasi diambil 2,0 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 5,0 ml baku kolesterol 140 ppm. Setelah itu direaksikan dengan 2,0 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Larutan didiamkan ditempat gelap selama 15 menit hingga terbentuk perubahan warna menjadi hijau. Hasil warna yang diperoleh, dibaca dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimal.

**Analisis Data**

Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran sampel ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) dibandingkan dengan larutan baku kolesterol untuk mengetahui persen kadar penurunan kolesterol. Perhitungan persentase kadar penurunan kolesterol menggunakan rumus berikut:

$$A = \frac{C - B}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = % penurunan kolesterol

B = Absorbansi sampel setelah perlakuan (ekstrak etanol+baku)

C = Absorbansi baku kolesterol awal

**3. Hasil dan Pembahasan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas senyawa kimia flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) terhadap penurunan kadar kolesterol secara in-vitro. Senyawa aktif flavonoid banyak manfaatnya bagi tubuh. Salah satunya yaitu flavonoid dapat digunakan sebagai penurun kolesterol dalam tubuh, flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner [8].

Tanaman suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Tambun, Kabupaten Bekasi. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Adapun teknik sampling dengan acak atau *random sampling*. Sebelum digunakan, daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) dicuci terlebih dahulu sampai bersih, untuk meminimalkan jumlah pengotor yang menempel pada daun. Daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) yang telah dicuci kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari, ditutup kain berwarna hitam atau gelap selama beberapa hari sampai daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) benar-benar kering. Proses pengeringan dilakukan agar meminimalkan kadar air yang dapat digunakan sebagai media tumbuh mikroorganisme, sehingga menyebabkan penurunan kualitas senyawa aktif yang terkandung didalam simplisia. Setelah daun suji

(*Dracaena angustifolia Roxb.*) benar-benar kering, daun dihaluskan menggunakan blender.

Proses penarikan senyawa dilakukan dengan metode remaserasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi menggunakan prinsip perendaman simplisia dengan cairan penyari yang cocok. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya, dimana setiap hari cairan penyari diganti baru. Dilakukan pengadukan yang kontinyu agar zat aktif dapat masuk ke dalam rongga sel dan mencegah adanya konsentrasi setempat pada sekitar sel tersebut. Pada saat perendaman simplisia, cairan penyari akan menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian melarutkannya. Zat aktif yang telah larut dapat keluar karena adanya proses difusi yang disebabkan perbedaan konsentrasi antara larutan yang ada di dalam rongga sel dan di luar sel [11].

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%. Etanol bersifat universal yaitu dapat melarutkan berbagai macam kandungan zat aktif. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Hasil ekstraksi yang didapat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Pada serbuk dan ekstrak dilakukan uji pendahuluan fitokimia. Tujuan dilakukan uji pendahuluan fitokimia pada serbuk dan ekstrak untuk mengetahui apakah pada daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) terdapat senyawa kimia flavonoid. Uji pendahuluan fitokimia yang dilakukan antara lain uji flavonoid dan uji shinoda seperti yang terlihat pada Tabel 1.

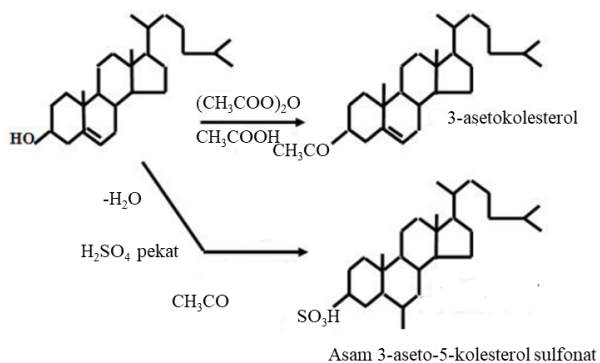
Tabel 1. Hasil Uji Pendahuluan Fitokimia pada Serbuk dan Ekstrak Daun Suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*)

Jenis Uji	Pereaksi dan Perlakuan	Teoritis	Hasil Percobaan	Keterangan	
				Serbuk	Positif
Uji flavonoid	Amonia encer + asam sulfat pekat	Warna kuning	kuning	Serbuk	Positif
				Ekstrak	Positif
Uji shinoda	Serbuk Mg + beberapa tetes HCl pekat	Terjadi warna jingga, merah muda atau merah	Larutan orange ke kuningan	Serbuk	Positif
				Ekstrak	Positif

Setelah dilakukan uji pendahuluan pada serbuk dan ekstrak daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) didapatkan hasil bahwa pada serbuk dan ekstrak daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*) terdapat senyawa flavonoid (Himesh, 2011).

Setelah diketahui jenis flavonoid yang terdapat dalam daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb.*), kemudian dilanjutkan dengan pengukuran sampel dari ekstrak etanol terhadap penurunan kadar kolesterol dengan menggunakan metode Lieberman-Burchard. Metode ini merupakan metode yang sangat spesifik untuk mengukur senyawa golongan steroid salah satunya adalah kolesterol. Baku kolesterol dilarutkan dalam kloroform karena 1 bagian kolesterol yang bersifat non

polar larut dalam pelarut non polar yaitu 4,5 bagian kloroform [12]. Reaksi yang dilakukan pada metode ini harus bebas dari air karena reaksi akan sangat sensitif dan tidak stabil terhadap air. Pada metode ini perlu ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Asam asetat anhidrat ditambahkan dengan tujuan untuk mengekstraksi kolesterol, memastikan media bebas air dan membentuk turunan asetil dari steroid yang kemudian ditetesi dengan asam sulfat pekat melalui dindingnya akan menghasilkan warna hijau untuk senyawa steroid termasuk kolesterol [13].



Gambar 1. Reaksi Pembentukan Warna Hijau antara Kolesterol dengan Pereaksi Lieberman-Burchard [14]

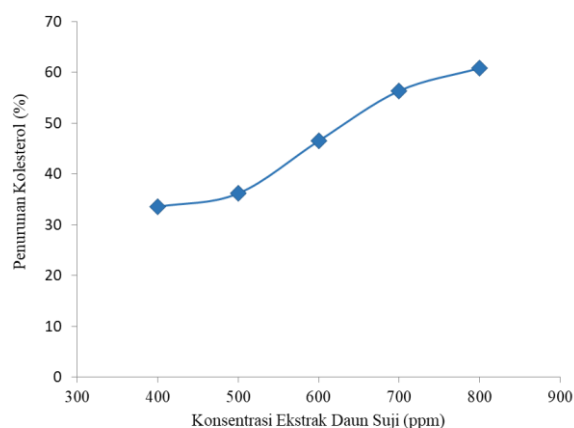
Aktivitas ekstrak daun suji terhadap penurunan kadar kolesterol diketahui dengan cara membandingkan absorbansi senyawa berwarna hasil reaksi antara kolesterol bebas dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dari larutan kontrol positif dengan larutan uji, kemudian dihitung persen penurunannya [15]. Konsentrasi kolesterol untuk membuat larutan kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan orientasi yaitu 140 ppm.

Ekstrak daun suji dibuat 5 konsentrasi yaitu 400, 500, 600, 600, 700 dan 800 ppm. Masing-masing konsentrasi sampel ditambahkan dengan baku kolesterol 140 ppm didalam tabung reaksi. Campuran tersebut direaksikan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Larutan didiamkan di tempat gelap terlindung dari cahaya selama 15 menit. Hal ini dilakukan karena larutan kolesterol bersifat fotodegradasi tidak stabil terhadap cahaya dan akan berubah menjadi kolestenon. Pendiangan selama 15 menit dilakukan juga agar larutan membentuk kompleks warna hijau kemudian dibaca nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yaitu 668 nm pada menit ke-15. Hasil pengukuran nilai absorbansi dan % penurunan kadar kolesterol dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Data Penurunan Kadar Kolesterol pada Ekstrak Daun Suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.)

Absorbansi Baku	Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Absorbansi Sampel	% Penurunan Kolesterol	Rata-rata
0,344	400 ppm	0,228	33,72 %	33,62 %
		0,230	33,14 %	
		0,227	34,01 %	
0,344	500 ppm	0,221	35,76 %	36,15 %
		0,220	36,05 %	
		0,218	36,63 %	
0,344	600 ppm	0,185	46,22 %	46,61 %
		0,183	46,80 %	
		0,183	46,80 %	
0,344	700ppm	0,153	55,52 %	56,39 %
		0,148	56,98 %	
		0,149	56,68 %	
0,344	800 ppm	0,126	63,37 %	64,05 %
		0,120	65,12 %	
		0,125	63,66 %	

Nilai absorbansi yang ditunjukkan oleh masing-masing konsentrasi berbeda. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka nilai absorbansinya semakin menurun. Hal ini terjadi karena dengan tingginya konsentrasi sampel maka dapat menurunkan kadar kolesterol dengan baik, sehingga nilai absorbansinya lebih kecil dan persentase aktivitas antikolesterolnya besar [16]. Pengukuran dilakukan secara triplo dan rata-rata persen penurunan kadar kolesterol digambarkan dalam kurva pada gambar 2.



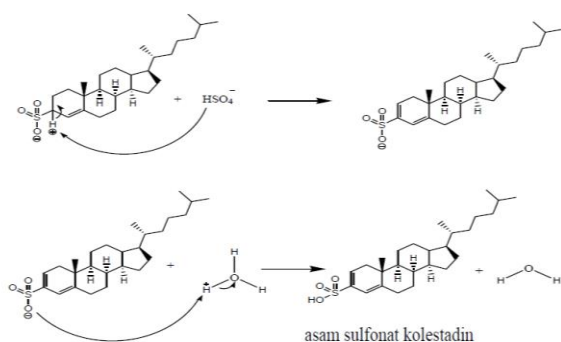
Gambar 2. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Daun Suji dengan Penurunan Kolesterol

Nilai  $EC_{50}$  merupakan suatu nilai untuk menggambarkan besarnya konsentrasi ekstrak daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) yang dapat menurunkan kadar kolesterol total sebesar 50%. Perhitungan nilai  $EC_{50}$  menggunakan persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji (X) dengan aktivitas penurunan kadar kolesterol rata-rata (Y) dari seri pengukuran sampel secara triplo.



Berdasarkan persamaan regresi linier  $y = 0,0811x - 1,296$  diperoleh nilai  $EC_{50}$  sebesar 632,50 ppm. Nilai  $EC_{50}$  berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa yang bersifat sebagai antikolesterol. Semakin kecil nilai  $EC_{50}$  berarti semakin kuat daya antikolesterolnya [17].

Senyawa-senyawa yang diduga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu fenolik, flavonoid, dan vitamin C. Gugus hidroksil pada kolesterol bereaksi dengan gugus keton pada flavonoid membentuk hemiasetal. Penelitian ini menggunakan alat spektrofotometer untuk mengukur kolesterol bebas, bukan kolesterol yang terikat oleh flavonoid [18]. Gugus karbonil pada flavonoid akan bereaksi dengan gugus hidroksil pada kolesterol membentuk ikatan hidrogen. Senyawa yang tidak terikat oleh sampel inilah atau disebut dengan kolesterol bebas yang bereaksi dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat [19].



Gambar 3. Ikatan Kimia antara Kolesterol dengan Senyawa Flavonoid

#### 4. Kesimpulan

Daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) mempunyai aktivitas sebagai penurun kolesterol secara *in-vitro* dengan nilai  $EC_{50}$  yaitu 632,50 ppm.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Sri Nilawati, Diah Krisnatuti, B. Mahendra, Oei Gin Djing, Care Yourself. kolesterol, Penerbar Plus+, 2008.
- [2] A. Ghanaim Fasya, Potensi Antikanker dan Antioksidan serta Identifikasi Isolat Steroid Mikroalga *Chlorella* sp, in, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2015, pp. 86.
- [3] Tan Hoan Tjay, Kirana Rahardja, Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya, 6th ed., Elex Media Komputindo, Jakarta, 2007.
- [4] Ulfah Nurrahmani, Stop Kolesterol Tinggi, Familia, 2012.
- [5] Yudi Garnadi, Hidup Nyaman dengan Hiperkolesterol, AgroMedia Pustaka, Jakarta, 2012.
- [6] Gagas Ulung, Sehat Alami dengan Herbal: 250 Tanaman Berkhasiat Obat, Gramedia Pustaka Utama Jakarta, 2014.
- [7] P. C. Ochani, P. D'Mello, Antioxidant and antihyperlipidemic activity of *Hibiscus sabdariffa* Linn. leaves and calyces extracts in rats, *Indian journal of experimental biology*, 47, 4, (2009) 276–282

- [8] R. Nalole, M. N. Djide, E. Wahyudin, A. I. Makhmud, Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol oleh Sari Kedelai Hitam (*Glycine max* Merr), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 13, 1, (2009) 17–20
- [9] K. R. Markham, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, K. Padmawinata, ITB, Bandung, 1988.
- [10] Soni Himesh, Sharma Sarvesh, Patel Sita Sharan, K. Mishra, A. K. Singhai, Preliminary Phytochemical Screening and HPLC Analysis of Flavonoid From Methanolic Extract of Leaves of *Annona squamosa*, *International Research Journal of Pharmacy*, 2, 5, (2011) 242–246
- [11] Republik Indonesia. Departemen Kesehatan, Sediaan galenik, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia, 1986.
- [12] R.C. Rowe, P.J. Sheskey, S.C. Owen, Handbook of Pharmaceutical Excipients, Pharmaceutical Press, 2006.
- [13] Muhammad Saiful Amin, Studi in vitro ; Efek Antikolesterol dari Ekstrak Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Terhadap Kolesterol Total, Program Studi Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- [14] James M. Orten, Otto Wilhelm Neuhaus, Human Biochemistry, Mosby, 1982.
- [15] D. Setyawan Purwo Handoko, Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis, *SIGMA: Jurnal Sains dan Teknologi*, 9, 1, (2006) 9
- [16] Kurnia Agustini, Shanti Marlina, Azizahwati, Pengaruh Lama Pemberian Formula Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Putih Jantan, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6, 2, (2007) 60–64
- [17] Muharram Priatna, Ade Irma Sartika, Ria Ambaryani, Uji Banding Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Buah Pepino (*Solanum muricatum*. Ait) dan Buah Strawberry (*Fragaria X ananassa duchesne*) pada Tikus Putih Jantan, *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 13, 1, (2015) 165–172
- [18] R. W. Burke, B. I. Diamondstone, R. A. Velapoldi, O. Menis, Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak color reactions for cholesterol, *Clinical Chemistry*, 20, 7, (1974) 794–781
- [19] Effendy, Teori VSEPR: kepolaran, dan gaya antarmolekul, Bayumedia, Malang, 2006.



## Decolorization of Remazol Black B Solution by PbO<sub>2</sub> Modified Fenton Method in a Scaled Up Reactor

Muhamad Abduh Hasibuan<sup>a\*</sup>, Didik Setiyo Widodo<sup>a</sup>, Retno Ariadi Lusiana<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: [abduhasibuan@gmail.com](mailto:abduhasibuan@gmail.com)

### Article Info

**Keywords:**  
 Remazol black B,  
 modified Fenton  
 method, PbO<sub>2</sub>,  
 decolorization,  
 scaled up sample  
 size, COD

**Kata Kunci:**  
 Remazol black B,  
 metode Fenton  
 dimodifikasi PbO<sub>2</sub>,  
 PbO<sub>2</sub>, dekolonisasi,  
 skala ganda, COD

### Abstract

Study on decolourization of remazol black B (RBB) solution has been performed in a scale up reactor. As an artificial waste, the dye sample that contains azo groups is difficult to decompose under ordinary environmental conditions so it requires further treatment before discharging to open aquatic system. Many efforts have been reported and further developed toward other azo dyes. One of an outstanding approach is Fenton method. This study modified the method with PbO<sub>2</sub> rather than Fe<sup>2+</sup>. In this modification, the dyestuff was degraded by radical ·OH resulting from reaction between H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Pb<sup>2+</sup> ion generated from PbO<sub>2</sub>. In Preliminary works, decolourization was performed and optimized in lab-scaled. Analysis were conducted and the best condition was applied to decolorize the sample in a scale-up size. Characteristics of the reactor was also determined. Results showed that at optimum condition, 100 mL of 50 ppm remazol black B was decolorized up to 98.82 % within 15 minutes. On scale up to 1 L-sized reactor, within the time highest percentages of remazol black B decolourization was reached 82.02 % by addition of 10 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and COD decrease to 98.96 %. In the 1 L reactor, RBB sample with concentration of 50 ppm, PbO<sub>2</sub> 1 gram and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % obey the proposed decolourization equation of  $D = -0,0011x^2 + 0,5705x - 0,6788$  with  $x =$  volume peroxide (in mL),  $D =$  percent of decolourization.

### Abstrak

Penelitian tentang dekolonisasi larutan limbah artifisial *Remazol black B* (RBB) telah dilakukan dalam reaktor skala ganda. Sampel zat warna yang mengandung gugus azo sulit terurai dalam kondisi lingkungan biasa sehingga membutuhkan perlakuan lebih lanjut sebelum dibuang ke perairan. Berbagai kajian upaya penanganan sampel serupa telah banyak dilakukan dan terus dikembangkan. Salah satu pendekatan yang sangat potensial adalah metode fenton. Pada kajian ini, limbah artifisial zat warna didegradasi oleh radikal ·OH yang dihasilkan dari reaksi antara H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan ion Pb<sup>2+</sup>. Pada percobaan awal, dekolonisasi dilakukan untuk memperoleh kondisi terbaik dalam dekolonisasi sampel skala laboratorium, menentukan karakteristik reaktro, dan pengujian larutan pascaperlakuan. Kondisi terbaik diaplikasikan untuk mendekolorisasi larutan *remazol black B* pada skala ganda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kondisi optimum dekolonisasi *remazol black B* pada volume 100 mL 50 ppm mencapai 98,82 %, pada skala ganda 82,02 % dengan penurunan COD sebesar 98,96 %. Pada ukuran sampel sampel *remazol black B* 50 ppm 1 L dengan karakteristik reaktor PbO<sub>2</sub> 1 g, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % dekolonisasi memenuhi model  $D = -0,0011x^2 + 0,5705x - 0,6788$  dengan  $x =$  volume peroksida (mL),  $D =$  persentase dekolonisasi

## 1. Pendahuluan

Masalah lingkungan sebagai dampak industri tekstil semakin meningkat, anytara lain bersumber dari buangan industri batik. Terlepas sebagai komoditi ekspor andalan, industri ini telah menimbulkan masalah yang serius bagi lingkungan terkait dengan penggunaan zat warna dari proses pencelupan dan finishing yang turut terbuang bersama air limbah sisa proses [1]. Salah satunya zat warna yang terkandung dalam limbah cair sisa pewarnaan atau pencelupan produksi batik adalah *Remazol black B* yang dibuang ke lingkungan perairan secara langsung. Di sisi lain lingkungan mempunyai kemampuan terbatas untuk mendegradasi zat warna [2]. Limbah yang mengandung zat warna telah banyak dikaji dan diatasi dengan pendekatan elektrolisis menggunakan elektroda  $PbO_2$ . Metode elektrolisis dengan elektroda  $PbO_2$  berkemampuan menghasilkan radikal hidroksil,  $\cdot OH$  [3-6]. Metode lain yang sangat potensial juga, adalah *Fenton Method*. Pada metode Fenton, limbah yang mengandung zat warna terdegradasi oleh radikal  $\cdot OH$  yang dihasilkan dari reaksi antara  $H_2O_2$  dengan ion  $Fe^{2+}$  dengan bantuan penyinaran [7].

Kemampuan  $PbO_2$  dalam produksi radikal tersebut menginspirasi studi lanjutan apakah Metode Fenton dapat dimodifikasi dengan bahan tersebut. Pada skala kecil, metode fenton mampu mendekolorisasi *Remazol black B* 100 ppm 100 mL hingga 92 % dan penurunan COD sebesar 99,5 % [8]. Potensi yang ditunjukkan pada riset terdahulu mendorong kajian lanjutan pada kondisi sampel yang lebih representatif terhadap kondisi lingkungan.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah serbuk *Remazol Black B* (Sigma-Aldrich), serbuk timbal oksida ( $PbO_2$ , limbah aki motor), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ , Merck for synthesis), asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ , Merck), NaOH, kertas saring (Whatmann), akuades. Alat-alat yang digunakan: seperangkat peralatan gelas (Pyrex), neraca analitik (Kern), Spektrometri UV-Vis (Shimadzu).

### Prosedur Penelitian

Serbuk *remazol black B* (RBB) sebanyak 1 g dilarutkan dalam akuades pada gelas beker dengan pengadukan hingga homogen untuk memperoleh larutan induk RBB 2000 ppm. Larutan ini kemudian diencerkan hingga 50 ppm. Larutan ini disiapkan dalam berbagai harga pH dengan penambahan  $H_2SO_4$  untuk aplikasi perlakuan dekolorisasi. Konsentrasi sampel sebelum dan sesudah perlakuan ditentukan dengan metode kurva kalibrasi dengan spektrometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 597 nm.

### Dekolorisasi pada Variasi pH.

Larutan *Remazol black B* 50 ppm 100 mL berbagai pH ditambah serbuk  $PbO_2$ . Sebanyak 50 mL larutan  $H_2O_2$  10

% ditambahkan tetes demi tetes selama 15 menit. Capuran didiamkan hingga 30 menit. Setelah penyaringan, absorbansi larutan ditentukan dan konsentrasi sisa dihitung. Grafik absorbansi terhadap pH digunakan untuk melihat kondisi pH optimum.

### Dekolorisasi pada Variasi Jumlah Serbuk $PbO_2$

Empat larutan *Remazol black B* 50 ppm dalam 100 mL pH netral ditambah  $PbO_2$  dengan variasi 1, 2, 3, dan 4 gram. Campuran heterogen tersebut ditetesi  $H_2O_2$  10 % 50 mL selama 15 menit. Setelah 30 menit absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang di atas. Grafik konsentrasi sisa terhadap variasi jumlah  $PbO_2$  digunakan untuk menetapkan jumlah  $PbO_2$  efektif dalam dekolorisasi.

### Dekolorisasi pada Ukuran Sampel Digandakan

Sampel dengan ukuran 1 L pada 7 reaktor dengan kondisi pH optimum ditambah sejumlah  $PbO_2$  optimum, dan konsentrasi  $H_2O_2$  optimum 10 % (yang diperoleh pada penelitian terdahulu) [9]. Larutan pertama didekolorisasi dengan penambahan  $H_2O_2$  10 % 50 mL tetes demi tetes dan diteruskan dengan pendiaman. Prosedur serupa dilakukan untuk sampel berikutnya dengan volume peroksida 100, 150, 200, 250, 300, dan 350 mL. Sampel dengan persentase dekolorisasi terbaik dipilih untuk analisis COD dan scanning spektra UV-Vis.

## 3. Hasil dan Diskusi

### Dekolorisasi pada Variasi pH dan Dosis $PbO_2$

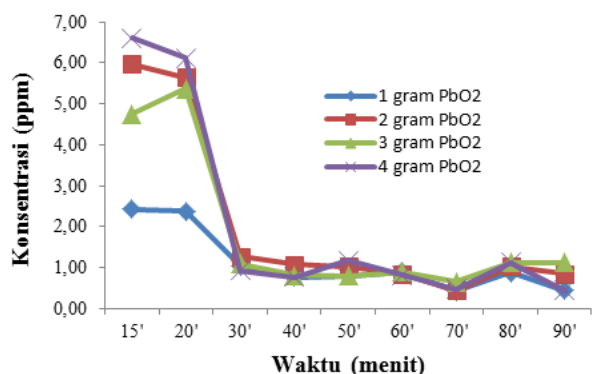
Perlakuan dekolorisasi RBB pada beberapa kondisi pH dilakukan dalam mengamati pengaruh pH terkait produksi radikal  $\cdot OH$  dan mekanisme degradasi zat warna RBB oleh radikal  $\cdot OH$  dalam larutan. Variasi pH dilakukan dengan pengkondisian larutan dengan asam sulfat dan NaOH. Proses dekolorisasi RBB pada pH netral menunjukkan hasil terbaik dibandingkan pada pH asam dan basa. berikut adalah data pengamatan dekolorisasi pada pH yang divariasikan.

Tabel 1. Hasil dekolorisasi *Remazol black B* pada variasi pH

No	Larutan Sampel	Konsentrasi RBB Awal (ppm)	Konsentrasi RBB Akhir (ppm)	pH Akhir
1	RBB + $H_2O_2$ pH = 3	50	2,13	6,20
2	RBB + $H_2O_2$ pH = 7	50	1,35	6,70
3	RBB + $H_2O_2$ pH = 11	50	5,02	9,50

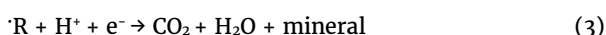
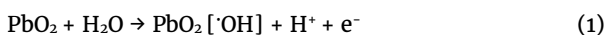
Pada variasi  $PbO_2$  dekolorisasi RBB dilakukan dengan variasi massa serbuk  $PbO_2$  1, 2, 3, dan 4 g. Variasi massa tersebut untuk mengevaluasi sampai massa berapa  $PbO_2$  memunculkan fenomena penurunan kemampuan dekolorisasi karena faktor *radical scavenging* pada

ukuran reaktor yang ditetapkan. Berikut hasil penentuan massa PbO<sub>2</sub> dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1 Penurunan konsentrasi RBB pada skala laboratorium pascadekolorisasi dalam berbagai waktu dan variasi massa PbO<sub>2</sub>

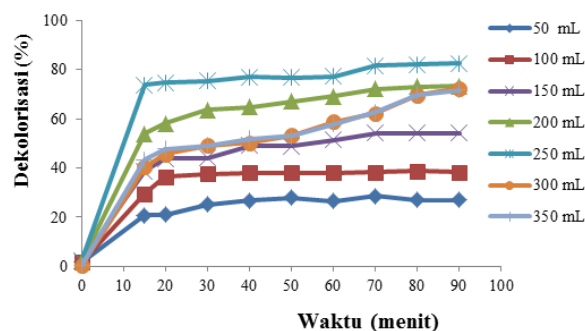
Gambar 1 menunjukkan bahwa massa serbuk PbO<sub>2</sub> yang paling optimum untuk dekolorisasi RBB adalah 1 g, yang tampak reaksi berlangsung paling cepat, ditandai penurunan konsentrasi RBB paling besar pada awal waktu dekolorisasi. Hingga 30 menit pertama, dekolorisasi dengan 1 g PbO<sub>2</sub> menghasilkan persentase dekolorisasi tertinggi dibanding massa yang lain. Massa PbO<sub>2</sub> lebih besar diperkirakan menunjukkan fenomena analog *hydroxy radical scavenging* pada kondisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> berlebih yang menurunkan kinerja radikal dalam reaksi penyerangan terhadap molekul zat warna [9]. Persentase dekolorisasi pada perlakuan 1 g PbO<sub>2</sub> pada skala laboratorium mencapai 98,82 % dalam waktu 30 menit. Penggunaan PbO<sub>2</sub> pada reaksi dengan H<sub>2</sub>O<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 [5, 6, 10]:



dengan R melambangkan substrat organik (zat warna).

**Dekolorisasi dan Model Dekolorisasi RBB pada skala Ganda**

Dekolorisasi pada skala ganda dilakukan untuk menguji efektifitas dekolorisasi *Remazol black B* menggunakan metode fenton termodifikasi ini pada ukuran reaktor 1 L. Parameter yang diukur pada pengujian ini meliputi absorbansi, spektra UV-Vis, dan nilai COD sebelum dan sesudah perlakuan. Kondisi optimum dekolorisasi skala laboratorium diterapkan pada skala ganda dengan variasi volume H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yaitu 50, 100, 150, 200, 250, 300, dan 350 mL. Evaluasi ini sekaligus untuk memperoleh model dekolorisasi pada grafik persentase dekolorisasi pada berbagai volume H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %. Hasil pengujian disajikan pada gambar 2.

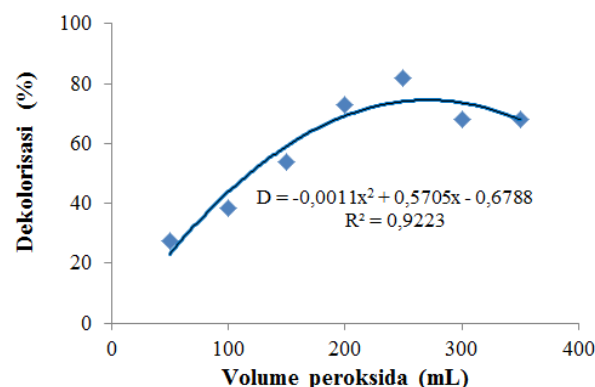


Gambar 2 Grafik persentase dekolorisasi *Remazol black B* pada waktu dan berbagai volume H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %

Pada gambar 2 terlihat pengaruh variasi volume H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> terhadap persentase dekolorisasi. Dekolorisasi terbesar teramati pada penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 250 mL sebesar 82,02 % dan penurunan nilai COD hingga 98,96 % setelah 90 menit. Penurunan nilai COD disebabkan zat warna yang terdekolorisasi akibat reaksi destruktif oleh radikal ·OH. Radikal ·OH yang terbentuk dapat mengoksidasi berbagai jenis polutan seperti pewarna tekstil, limbah farmasi dan polutan organik lainnya dalam waktu yang singkat [11]. Pemakaian peroksida lebih besar 250 mL tidak menunjukkan dekolorisasi yang linear dengan volume—persentase dekolorisasi. Jumlah peroksida berlebih menimbulkan efek antisinerji. Hal ini dapat dijelaskan pada pers. 9, ·OH yang sudah terbentuk dari reaksi hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dapat bereaksi kembali dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> berlebih membentuk ·O<sub>2</sub>H (*hidroperoxy radical*). ·O<sub>2</sub>H ini memiliki sifat yang kurang reaktif sehingga tidak dapat bereaksi cepat dengan senyawa organik atau komponen-komponen lain [9, 12].

Gambar 2 di atas dapat disajikan secara berbeda untuk lebih menggambarkan model perubahan dekolorisasi RBB pada pengaruh volume peroksida yang berlaku untuk karakteristik reaktor 1 L, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %, PbO<sub>2</sub> 1 g, sebagaimana diajikan pada gambar 3. Dekolorisasi sampel pada skala ganda yang ditunjukkan pada gambar 3 dengan karakteristik reaktor tersebut diusulkan mengikuti model polinomial, D (D = persentase dekolorisasi dan x volume peroksida 10 %) berikut.

$$D = -0,0011x^2 + 0,5705x - 0,6788 \quad (4)$$

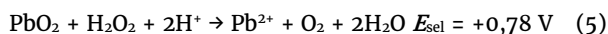


Gambar 3 Grafik pengaruh volume H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % terhadap kemampuan dekolorisasi *remazol black B* 50 ppm dalam reaktor 1000 mL

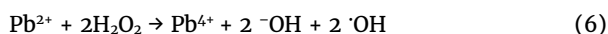
Model matematika ini menginformasikan tingkat kemampuan reaktor yang memiliki karakteristik yang dispesifikasikan di atas dan kebutuhan peroksida dalam mendekolorisasi sampel RBB. Dengan model itu, secara matematik reaktor ini akan mencapai kinerja maksimum pada penggunaan peroksida 259,32 mL, yang mampu mendekolorisasi sampel RBB 50 ppm 1000 mL hingga 73,3 % (sebagaimana dapat dihitung dari model persamaan polinomial tingkat 2 tersebut). Secara implisit kemampuan dekolorisasi ini mampu ditingkatkan dengan merubah karakteristik reaktor, antara lain kriteria dosis PbO<sub>2</sub> dan pH. Variabel ini akan menjadi sudut kajian lanjutan dalam meningkatkan kinerja reaktor.

**Dekolorisasi dalam kajian mekanistik**

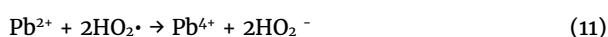
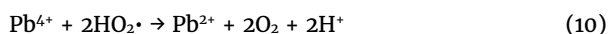
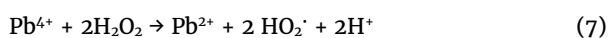
Mekanisme pembentukan radikal pada modifikasi metode Fenton terletak pada material PbO<sub>2</sub> dalam reaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Reaksi usulkan analog dengan pembentukan radikal pada reaksi Fenton. Pada reaksi fenton, spesies yang berinteraksi adalah antara ion Fe<sup>2+</sup> atau Fe<sup>3+</sup> dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menghasilkan radikal ·OH yang dapat mendegradasi sampel [13-15]. Pada reaksi redoks antara PbO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dihasilkan Pb<sup>2+</sup> yang bereaksi lanjut dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membentuk radikal [13]. Reaksi pembentukan radikal ini diduga analogi dengan reaksi pembentukan radikal pada mekanisme reaksi fenton karena ketersediaan energi dari reaksi redoks spontan (pers. 5).



*Fenton-like reaction* sesudah pembentukan Pb<sup>2+</sup> adalah sebagai berikut.

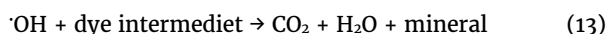
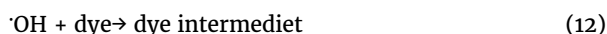


Ketersediaan energi dari proses spontan memungkinkan reaksi balik Pb<sup>4+</sup> yang terbentuk menjadi Pb<sup>2+</sup> yang mampu bereaksi lanjut membentuk radikal hidoksil lagi (pers. 7). Pada kondisi tidak ideal, proses ·OH *radical scavenging* mungkin dapat berlangsung dan menurunkan kinerja dekolorisasi (pers. 8,9).

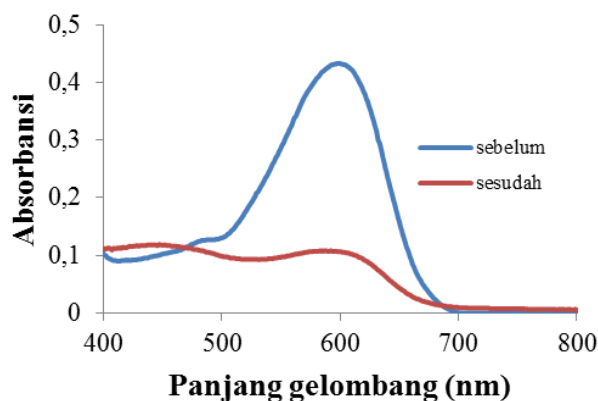


Berdasarkan mekanisme tersebut, disimpulkan bahwa modifikasi ini memungkinkan sistem mengalami dua reaksi, reaksi pertama adalah dekomposisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh PbO<sub>2</sub> yang berlangsung secara spontan yang pada kondisi standar menghasilkan energi sebesar +0,78 V. Reaksi kedua adalah reaksi pembentukan radikal yang digunakan dalam proses degradasi larutan zat warna. Larutan zat warna dapat terdecolorisasi akibat reaktivitas radikal ·OH. Radikal ·OH yang terbentuk dapat mengoksidasi berbagai jenis polutan seperti pewarna tekstil, limbah farmasi dan polutan organik lainnya dalam waktu yang singkat [11].

Proses degradasi RBB, mengacu persamaan 1, 2, dan 3 di atas, dan ditegaskan oleh peneliti lain, berlangsung melalui skema radikal berikut [16].



Pada reaksi di atas dapat diindikasikan bahwa radikal ·OH menginisiasi zat menjadi molekul yang lebih sederhana (CO<sub>2</sub>) yang menunjukkan oksidasi sempurna substrat organik kesimpulan ini sejalan dengan penelitian terdahulu [1]. Spektra UV-Vis RBB sebelum dan sesudah dekolorisasi terlihat pada gambar 4.



Gambar 4 Spektra UV-Vis larutan remazol black B sebelum dan sesudah dekolorisasi

Gambar 4 menunjukkan tingkat dekolorisasi RBB secara spektroskopi yang tampak pada penurunan intensitas spektra visibel, terutama pada puncak 597 nm. Puncak spektra yang hilang menunjukkan secara kualitatif gugus yang bertanggung jawab pada warna RBB berikut struktur besar molekul RBB telah terdegradasi. Tingkat degradasi diimplementasikan pada data persentase dekolorisasi yang mencapai 82,02 % dalam 30 menit perlakuan. Degradasi molekuler juga secara kuantitatif direpresentasikan pada data COD, yang mencapai 98,96 %. Penurunan angka COD sejalan dengan data spektra UV-Vis setelah perlakuan dekolorisasi yang menunjukkan bahwa tidak ada puncak baru sehingga sampel remazol black B telah terdecolorisasi menjadi senyawa karbon rantai pendek dan tidak mempunyai gugus kromofor yang aman untuk dibuang ke lingkungan.

**4. Kesimpulan**

Larutan remazol black B mampu didecolorisasi dalam reaktor Fenton yang dimodifikasi PbO<sub>2</sub> secara efektif. Kondisi optimum dekolorisasi sampel remazol black B dengan volume 100 mL 50 ppm adalah pH netral, penggunaan PbO<sub>2</sub> 1 g, konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % dengan persentase dekolorisasi 98,82 %. Dekolorisasi Remazol black B pada skala ganda mencapai 82,02 % dengan penurunan COD sebesar 98,96 %. Pada reaktor 1 L Remazol black B 50 ppm menggunakan katalis PbO<sub>2</sub> 1 g, dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %, maka diusulkan dengan model persamaan dekolorisasi  $D = -0,0011x^2 + 0,5705x - 0,6788$  dengan x volume peroksida (mL).

## 5. Persantunan

Penulis mengucapkan terimakasih atas terselesaikannya penelitian ini atas support peralatan, bahan dan diskusi pada Laboratorium Kimia Analitik Departemen Kimia FSM Universitas Diponegoro.

## 6. Daftar Pustaka

- [1] Didik Setiyo Widodo, Ismiyarto Ismiyarto, Fithri Noorikhlas, Elektroremediasi Perairan Tercemar: 3. Elektrodekolorisasi Larutan Remazol black B dengan Elektroda Timbal Dioksida/Karbon dan Analisis Larutan Sisa Dekolorisasi, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12, 1, (2009) 6  
<http://dx.doi.org/10.14710/jksa.12.1.1-6>
- [2] Luthfia Apipah, Didik Setiyo Widodo, Rum Hastuti, Pemanfaatan Limbah Elektroda Aki pada Proses Elektrodekolorisasi Larutan Zat Warna, *Chem Info*, 1, 1, (2013) 1-10
- [3] Galih Widayanti, Didik Setiyo Widodo, Abdul Haris, Elektrodekolorisasi Perairan Tercemar Limbah Cair Industri Batik dan Tekstil di Daerah Batang dan Pekalongan, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15, 2, (2012) 62-69  
<http://dx.doi.org/10.14710/jksa.15.2.62-69>
- [4] Ilyas Bachtiar, Didik Setiyo Widodo, Elektrodekolorisasi Limbah Cair Pabrik Tekstil di Wilayah Semarang dengan Elektroda PbO<sub>2</sub>/Pb, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18, 3, (2015) 85-90  
<http://dx.doi.org/10.14710/jksa.18.3.85-90>
- [5] Afrianti Reza Kusuma, Didik Setiyo Widodo, Elektrodekolorisasi Limbah Cair Batik di Pekalongan dengan Elektroda PbO<sub>2</sub>/Cu, 2015, 18, 2, (2015) 57-61  
<http://dx.doi.org/10.14710/jksa.18.2.57-61>
- [6] Didik Setiyo Widodo, Linda Suyati, Gunawan Gunawan, Abdul Haris, Decolorization of Artificial Waste Remazol Black B using Electrogenerated Reactive Spesies, 2018, 21, 1, (2018) 29-33  
<http://dx.doi.org/10.14710/jksa.21.1.29-33>
- [7] R. Salazar, M. S. Ureta-Zañartu, Degradation of acid violet 7 and reactive black 5 in water by electro-fenton and photo electro-fenton by, *Journal of the Chilean Chemical Society*, 57, 1, (2012) 999-1003  
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072012000100010>
- [8] Halimatusyadiah, Dekolorisasi Elektrokimiawi Remazol Black B oleh Reagen Fenton (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dengan PbO<sub>2</sub>, Departemen Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [9] Katerina Jovina Koes Widyantoro, Dekolorisasi Limbah Zat Warna Home Industry Batik dengan Menggunakan PbO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Departemen Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [10] Herlan Martono, Aisyah Aisyah, Studi Pengolahan Limbah Organik Secara Elektrokimia, in, Pusat Pengembangan Pengelolaan Limbah Radioaktif - BATAN, Jakarta, 2000.
- [11] Ch. Venkatanarasimha Rao, Ardendu Sekhar Giri, Vibhav V. Goud, Animes Kumar Golder, Studies on pH-dependent color variation and decomposition mechanism of Brilliant Green dye in Fenton reaction, *International Journal of Industrial Chemistry*, 7, 1, (2016) 71-80  
<http://dx.doi.org/10.1007/s40090-015-0060-x>
- [12] Masahiro Tokumura, Ayano Ohta, Hussein T. Znad, Yoshinori Kawase, UV light assisted decolorization of dark brown colored coffee effluent by photo-Fenton reaction, *Water Research*, 40, 20, (2006) 3775-3784  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.012>
- [13] Rizka Dwiyantri, Dekolorisasi Remazol Violet 5r Dengan Pendekatan Reaksi Oksidasi-Reduksi Menggunakan PbO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Departemen Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [14] Masahiro Tokumura, Risa Morito, Yoshinori Kawase, Photo-Fenton process for simultaneous colored wastewater treatment and electricity and hydrogen production, *Chemical Engineering Journal*, 221, (2013) 81-89  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.01.075>
- [15] Shima Rahim Pouran, A. R. Abdul Aziz, Wan Mohd Ashri Wan Daud, Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21, (2015) 53-69  
<https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.05.005>
- [16] Leda Cristina da Silva, Benício de Barros Neto, Valdinete Lins da Silva, Homogeneous degradation of the Remazol Black B dye by Fenton and photo-Fenton processes in aqueous medium, *Afinidad*, 66, 541, (2009) 232-237



## Isolation and Testing of Bacteria from Steroid Compounds obtained from Anting-anting Leaf (*Acalypha indica* L.)

Ditya Vega Fauzia <sup>a\*</sup>, Dewi Kusriani <sup>a</sup>, Enny Fachriyah <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: [vega.dty@gmail.com](mailto:vega.dty@gmail.com)

### Article Info

Keywords:  
 Anting-anting leaves, Steroid, Antibacterial activity

Kata Kunci:  
 Daun anting-anting, Steroid, Aktivitas Antibakteri

### Abstract

Isolation of steroid compounds from the leaves of the earrings (*Acalypha indica* L.) and the antibacterial test has been performed. This study aims to obtain information about secondary metabolite compound leaves of Anting-anting, obtaining and identifying steroid isolates from the leaves of Anting-anting and knowing the antibacterial activity of the positive fraction of steroid compounds. The research stages include sample preparation, phytochemical test, isolation, separation, purification of steroid compounds, identification of steroid isolates using LC-MS/MS, and antibacterial test by paper disc method. The results of phytochemical screening show that the leaves of the earrings contain alkaloid compounds, flavonoids, steroids, saponins, tannins, and quinones. From the results of steroid isolation, we found steroid isolates weighing 0.0065 grams (0.0058%). Identification of steroid isolates using LC-MS/MS at a retention time of 7.49 min with  $[M+H]^+$  399 m/z indicated the presence of a brassicasterol compound. The results of antibacterial test of fraction A from chloroform extract containing steroid compound showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria and *Escherichia coli* bacteria.

### Abstrak

Isolasi senyawa steroid dari daun anting-anting (*Acalypha indica* L.) dan uji antibakterinya telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi tentang senyawa metabolit sekunder daun anting-anting, memperoleh dan mengidentifikasi isolat steroid dari daun anting-anting serta mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi positif senyawa steroid. Tahap penelitian meliputi preparasi sampel, uji fitokimia, isolasi, pemisahan, pemurnian senyawa steroid, identifikasi isolat steroid menggunakan LC-MS/MS, dan uji antibakteri dengan metode cakram kertas. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa daun anting-anting memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tannin, dan kuinon. Dari hasil isolasi steroid, didapatkan isolat steroid seberat 0,0065 gram (0,0058%). Identifikasi isolat steroid dengan menggunakan LC-MS/MS pada waktu retensi 7,49 menit dengan  $[M+H]^+$  399 m/z menunjukkan adanya senyawa brassicasterol. Hasil uji antibakteri fraksi A dari ekstrak kloroform yang mengandung senyawa steroid menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.

### 1. Pendahuluan

Penggunaan tanaman tertentu sebagai obat merupakan warisan turun temurun dari nenek moyang kita. Salah satu tanaman yang berpotensi menjadi

tanaman obat adalah anting-anting (*Acalypha indica* L.). Tanaman anting-anting secara tradisional sudah dimanfaatkan untuk pengobatan disentri, malnutrisi, mimisan, muntah darah, kencing darah dan malaria [1].

Tanaman anting-anting telah diteliti memiliki berbagai macam khasiat seperti obat sakit gusi, memiliki efek anti racun, penyembuhan luka, antioksidan [2], anti inflamasi [3], antimikroba [4], obat antikanker [5] serta antidiuretik [6]. Kandungan fitokimia yang terdapat dalam tanaman anting-anting meliputi alkaloid, tannin, steroid, saponin, senyawa fenolik, dan flavonoid [7]. Senyawa steroid yang berhasil diisolasi pada tanaman anting-anting adalah stigmasterol,  $\gamma$ -sitosterol, dan  $\beta$ -sitosterol [8] dan pada familia *Eurphobiaceae* adalah brassicasterol [9]. pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa steroid fraksi kloroform dari daun anting-anting dan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## 2. Metode Penelitian

### Preparasi dan Penapisan fitokimia

Sampel penelitian berupa daun Anting-anting yang diperoleh dari daerah Kota Bekasi. Daun anting-anting yang diperoleh dibersihkan, dikeringkan dan dihaluskan menjadi serbuk dan diuji penapisan fitokimia.

### Pembuatan Ekstrak Etanol

Sebanyak 1.100 gram serbuk daun anting-anting dimaserasi dengan etanol 96% hingga jernih. Ekstrak yang diperoleh kemudian dievaporasi sampai mendapat ekstrak etanol dan ditimbang. Ekstrak etanol dilarutkan dalam etanol selanjutnya dilakukan penghilangan klorofil dengan menambahkan akuades (1:1) lalu disaring dan diuapkan.

### Isolasi, Pemisahan, dan Pemurnian Senyawa Steroid

Ekstak etanol-air sebanyak 60,74 gram dilakukan isolasi steroid dengan kromatografi cair vakum menggunakan fasa diam silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan fasa gerak menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Masing-masing fraksi dilakukan uji kandungan steroid menggunakan KLT dengan penambahan pereaksi Liebermann-Burchard. Fraksi kloroform dengan hasil positif steroid dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fasa diam silika gel 60 dan fasa gerak berupa campuran kloroform : etil asetat (4:6). Eluat-eluat yang dihasilkan dari kolom ditampung setiap 15 mL dalam botol vial. Masing-masing botol vial dianalisis pola noda yang terbentuk dengan KLT. Eluat-eluat yang memiliki pola noda yang sama digabungkan menjadi fraksi-fraksi besar (fraksi besar A, B, dan C) kemudian dilakukan analisis steroid menggunakan metode KLT dengan penambahan pereaksi Liebermann-Burchard. Fraksi positif steroid dilakukan pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan fasa diam plat silika gel 60 F<sub>254</sub> ukuran 20 cm x 20 cm, ketebalan 0,5 mm-2,0 mm dan fasa gerak berupa campuran kloroform : etil asetat (3:1) hingga didapatkan isolat steroid.

### Uji Kemurnian

Uji kemurnian isolat steroid dilakukan dengan KLT berbagai eluen tunggal dan campuran serta KLT dua

dimensi dengan eluen campuran hingga diperoleh noda tunggal.

### Identifikasi Struktur

Isolat steroid yang telah murni diidentifikasi strukturnya menggunakan LC-MS/MS.

### Uji Aktiviitas Antibakteri

Fraksi A hasil kromatografi kolom gravitasi yang positif mengandung senyawa steroid diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode cakram kertas berdasarkan pengukuran diameter zona bening. Kertas cakram yang berdiameter  $\pm 6$  mm dimasukkan ke dalam fraksi A ekstrak kloroform dengan masing-masing konsentrasi sebesar 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, larutan kontrol positif dan kontrol negatif. Dalam penelitian ini, Amoxicillin dengan konsentrasi 2000 ppm digunakan sebagai kontrol positif dan aquades yang ditambahkan dengan tween 20 digunakan sebagai kontrol negatif. Kertas cakram yang berisi larutan uji diletakkan pada media agar sebagai media uji. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening di sekitar cakram yang terlihat diukur menggunakan jangka sorong.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak etanol daun anting-anting. Hasil penapisan fitokimia disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak etanol daun anting-anting

Uji	Hasil	
	Serbuk	Ekstrak Etanol
Flavonoid	+	+
Alkaloid	+	+
Steroid	+	+
Triterpenoid	-	-
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Kuinon	+	+

### Pembuatan Ekstrak Etanol

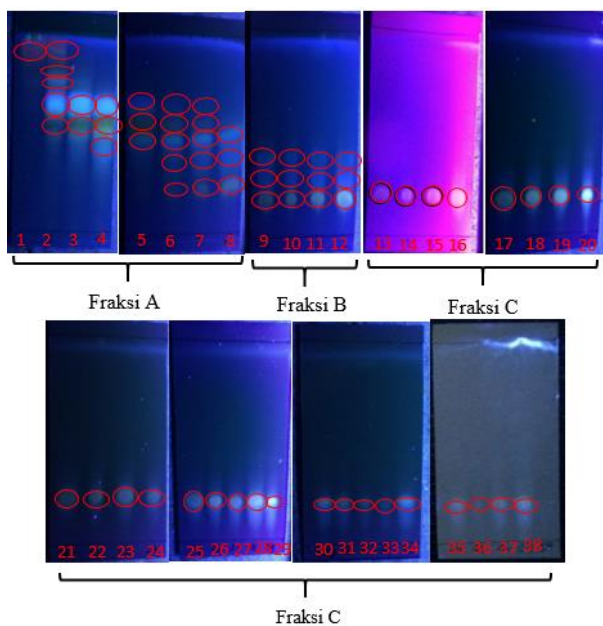
Sebanyak 1.100 gram serbuk daun anting-anting dimaserasi dengan pelarut etanol 96%, disaring dan dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental etanol berwarna coklat kehitaman pekat sebanyak 100,56 gram. Ekstrak kental etanol yang didapat kemudian dihilangkan kandungan klorofilnya menggunakan akuades hangat (1:1) yang bertujuan untuk mengikat dan memisahkan klorofil dan didapatkan ekstrak etanol-air dengan massa 60,74 gram.

### Isolasi, Pemisahan, dan Pemurnian Steroid

Isolasi senyawa steroid pada ekstrak etanol-air dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum dengan fasa diam silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan fasa

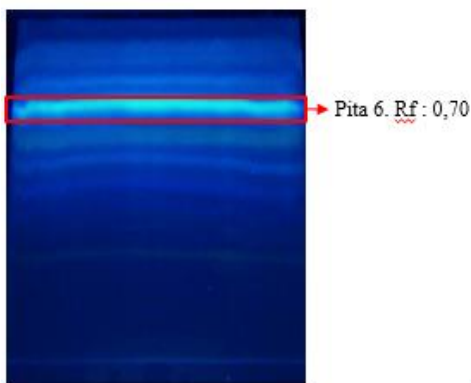


gerak berupa n-heksana, kloroform, dan etil asetat yang dielusi secara berurutan. Dihasilkan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi etil asetat yang kemudian diuji kandungan senyawa steroidnya dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Fraksi kloroform yang positif mengandung senyawa steroid kemudian dipisahkan senyawa steroidnya dengan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 dan fasa gerak merupakan campuran kloroform:etil asetat (4:6). Eluat yang dihasilkan sebanyak 38 botol vial, kemudian masing-masing botol vial dianalisis dengan KLT menggunakan fasa gerak kloroform : etil asetat (4:6) yang ditunjukkan pada gambar 1.



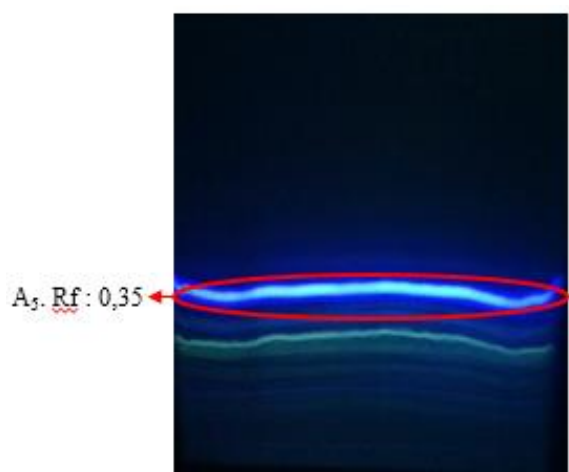
Gambar 1. Profil KLT fraksi kloroform hasil kromatografi kolom gravitasi menggunakan fasa gerak kloroform : etil asetat (4:6) pada UV  $\lambda$  365 nm

Fraksi A yang positif mengandung senyawa steroid saat disemprot reagen Liebermann-burchard dipisahkan senyawa steroid menggunakan KLT Preparatif dengan fasa diam silika gel 60GF<sub>254</sub> dan fasa gerak berupa campuran kloroform : etil asetat (3:1). Hasil KLT preparatif fraksi A hasil kromatografi kolom gravitasi ditunjukkan pada gambar 2.



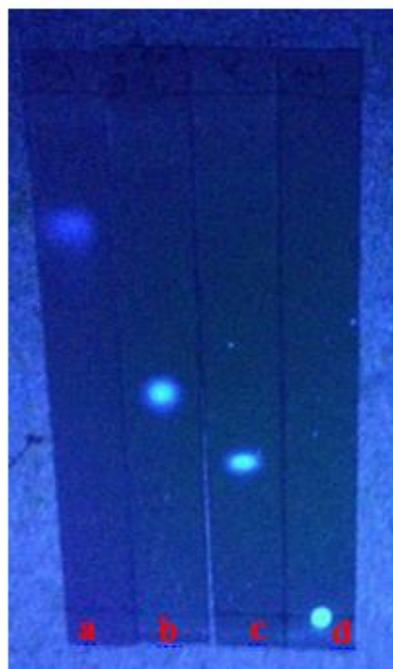
Gambar 2. Profil KLT preparatif fraksi A dengan eluen kloroform : etil asetat (3:1) di bawah lampu UV  $\lambda$  365 nm

Pita ke-6 kemudian diuji kemurnian menggunakan plat KLT dengan eluen kloroform menghasilkan 5 buah noda. Perlu dilakukan pemurnian kedua untuk memisahkan 5 noda yang teridentifikasi dengan menggunakan KLT preparatif. Pemurnian kedua dilakukan dengan menggunakan plat KLT Preparatif silika gel 60GF<sub>254</sub> dengan eluen kloroform : etil asetat (9:1).



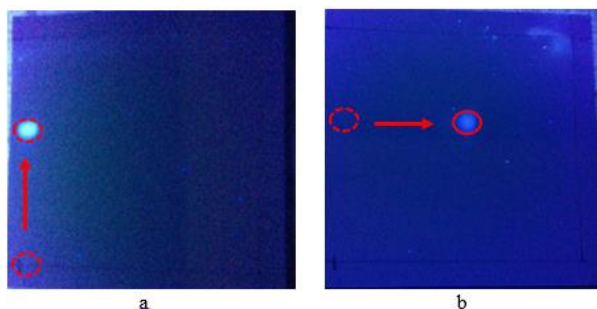
Gambar 3. Hasil KLT preparatif ke-2 pita ke-6 dengan eluen kloroform : etil asetat (9:1) dibawah lampu UV  $\lambda$  365 nm

Pita A<sub>5</sub> selanjutnya dikerok, dilarutkan, dan disaring hingga didapat isolat steroid. Isolat steroid kemudian diuji kemurniannya dengan metode KLT berbagai eluen tunggal dan campuran seperti kloroform, n-heksana, dan etil asetat. Hasil uji kemurnian isolat steroid ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji kemurnian isolat steroid dengan eluen tunggal dan campuran di bawah lampu UV  $\lambda$  365 nm. Keterangan: Fasa gerak (A) = etil asetat, (B) = kloroform : etil asetat (7:3), (C) = kloroform, (D) = n-heksana

Uji kemurnian dilanjutkan menggunakan metode KLT dua dimensi dengan eluen (a) kloroform : etil asetat (6:4). Setelah diputar 90°, eluen kedua yang digunakan adalah (b) kloroform : etil asetat (4:6). seperti yang ditunjukkan pada gambar 5.

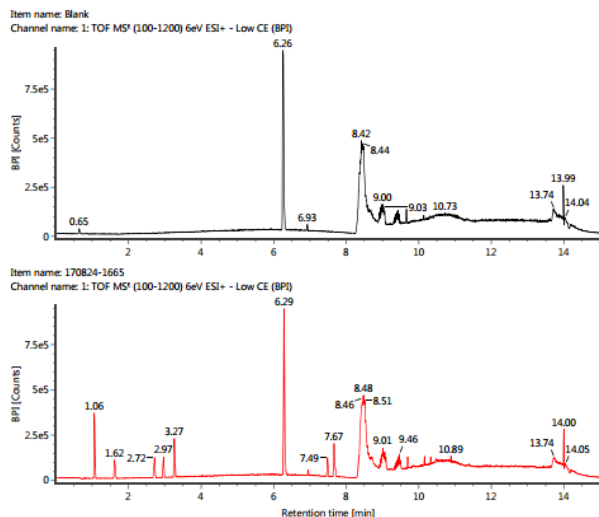


Gambar 5. Hasil uji kemurnian KLT dua dimensi isolat steroid di bawah lampu UV λ 365 nm

Berdasarkan analisis menggunakan KLT dua dimensi, didapatkan satu noda yang menunjukkan bahwa isolat steroid relatif murni. Isolat yang didapat kemudian diuapkan dan diperoleh isolat steroid sebesar 0,0065 gram.

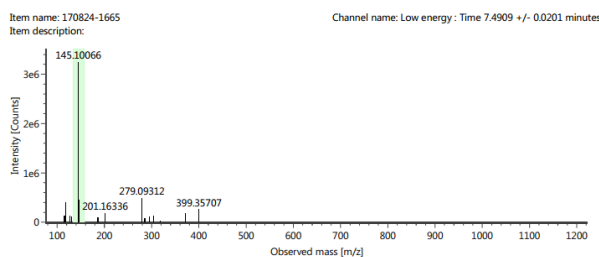
**Analisis Isolat Steroid**

Isolat steroid selanjutnya dianalisis dengan instrumen LC-MS/MS untuk mengetahui perkiraan jenis serta struktur senyawa yang terdapat pada isolat berdasarkan berat molekul yang teridentifikasi. Kromatogram LC isolat steroid ditunjukkan pada gambar 6.



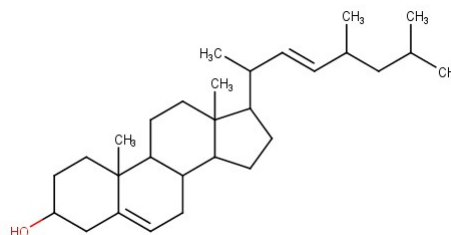
Gambar 6. Kromatogram LC isolat steroid (bawah)

Hasil kromatogram LC terdapat tujuh puncak. Salah satu puncak dengan waktu retensi 7,49 menit yang menunjukkan adanya senyawa steroid yang akan teridentifikasi struktur dan berat molekulnya dengan melihat spektrogram massa yang dihasilkan. Spektrogram pada waktu retensi 7,49 menit ditunjukkan pada gambar 7.



Gambar 7. Spektrogram massa isolat steroid pada waktu retensi 7,49 menit

Pada spektrogram dengan waktu retensi 7,49 menit terdapat ion molekular  $[M+H]^+$  399 m/z sehingga memiliki berat molekul 398 g/mol. Berdasarkan hasil LC-MS/MS di atas diusulkan senyawa hasil isolasi adalah senyawa golongan steroid yaitu Brassicasterol. Berdasarkan kemotaksonomi, penelitian yang telah dilakukan mengenai isolasi senyawa golongan steroid dari tanaman *Euphorbia hirta* yang merupakan salah satu tanaman dari familia *Euphorbiaceae* dengan berat molekul 398 g/mol adalah Brassicasterol<sup>[9]</sup>. Tanaman anting-anting merupakan salah satu tanaman dari familia *Euphorbiaceae*, sehingga kemungkinan senyawa yang teridentifikasi dengan berat molekul 398 g/mol pada tanaman anting-anting adalah Brassicasterol.



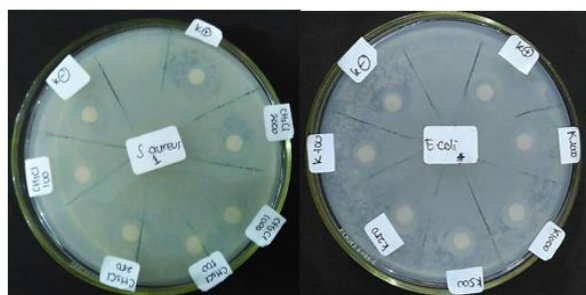
Gambar 8. Struktur Brassicasterol

**Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui bioaktivitas suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan suatu jenis bakteri. Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram kertas, dimana kertas saring berdiameter 6 mm yang berisi sejumlah senyawa aktif ditempatkan pada permukaan medium padat yang telah diinokulasi bakteri uji pada permukaan medianya. Setelah inkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan senyawa aktif tersebut terhadap organisme uji [10]. Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap fraksi A hasil kromatografi kolom gravitasi yang positif mengandung senyawa steroid. Konsentrasi fraksi A dari ekstrak kloroform yang digunakan adalah 100, 250, 500, 1000 dan 2000 ppm dengan kontrol positif yang digunakan adalah larutan amoxicillin 2000 ppm dan kontrol negatif berupa aquades yang ditambahkan tween 20. Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan terhadap fraksi A hasil kromatografi kolom gravitasi yang positif mengandung senyawa steroid ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat uji antibakteri

Konsentrasi (ppm)	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
2000	10	7,5
1000	9	6
500	9	6
250	9	5
100	7	5
Kontrol negatif	0	0
Kontrol positif	10	10



Gambar 8. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi A ekstrak kloroform hasil kromatografi kolom gravitasi

Pada tabel 2 terlihat bahwa diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding selnya yang lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pada bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks berupa lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan [11]. Dengan demikian, bakteri *Escherichia coli* memiliki pertahanan yang lebih kuat terhadap komponen antibakteri dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga memiliki daerah zona hambat yang lebih kecil.

Menurut [12], kategori daya hambat uji antibakteri adalah diameter zona hambat <10 mm dikatakan kurang efektif, diameter 11–15 kategori lemah, diameter 16–20 mm dikatakan kategori sedang, dan diameter >20 mm dikatakan kategori tinggi. Pada diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* dengan berbagai konsentrasi diketahui bahwa respon penghambatan pertumbuhan bakterinya merupakan respon lemah, sedangkan untuk diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui respon penghambatan bakteri pada konsentrasi 100 ppm sampai konsentrasi 1000 ppm termasuk kedalam respon kurang efektif dan untuk konsentrasi 2000 ppm cenderung lemah. Senyawa steroid bekerja sebagai senyawa aktif antibakteri dengan cara berinteraksi dengan membran sel [13]. Senyawa steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel sehingga menyebabkan integritas membran sel

menurun, morfologi membran sel berubah dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh dan akhirnya lisis [14].

#### 4. Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak etanol daun Anting-anting (*Acalypha indica* L.) meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, kuinon, dan steroid. Isolat steroid dari daun anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang diperoleh adalah 0,0065 gram dengan rendemen 0,0058% dan identifikasi senyawa steroid menggunakan instrumen LC-MS/MS diduga senyawa brassicasterol. Fraksi A ekstrak kloroform hasil kromatografi kolom gravitasi dengan kandungan senyawa steroid memiliki bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Arief Pambudi, Syaefudin, Nita Noriko, Risa Swandari, Purwanty Rara Azura, Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.), *Jurnal AL-AZHAR INDONESIA SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*, 2, 3, (2014) 178–187
- [2] Anirban Mullick, Sunanda Mandal, Rituparna Bhattacharjee, Anindita Banerjee, In-Vitro Assay of Antioxidant and Antibacterial Activity of Leaf Extract and Leaf Derived Callus Extract of *Acalypha indica* L., *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IJPBS)*, 3, 1, (2013) 504–510
- [3] D. Jagatheeswari, J. Deepa, H. Sheik Jahabar Ali, P. Ranganathan, *Acalypha indica* L - an Important Medicinal Plant: a Review of Its Traditional Uses, and Pharmacological Properties, *International Journal of Research in Botany*, 3, 1, (2013) 19–22
- [4] J. Rajaselvam, J. M. Benila smily, R. Meena, A Study of Antimicrobial Activity of *Acalypha indica* Against Selected Microbial Species, *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 3, 9, (2012) 473–476
- [5] Rajeshwari Sivaraj, Pattanathu K. S. M. Rahman, P. Rajiv, S. Narendhran, R. Venckatesh, Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 129, (2014) 255–258 <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.027>
- [6] P. Vijayarekha, N. Sangottaiyan, A. Noorjahan, S. Ambiga, Antibacterial Activity of *Acalypha indica* Linn, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, 6, (2015) 1133–1138
- [7] Chandra Mohan, S. Dinakar, Anand Thirupathi, R. Elayaraja, B. Sathiyapriya, Phytochemical, GC-MS analysis and Antibacterial activity of a Medicinal Plant *Acalypha indica*, *International Journal of PharmTech Research*, 4, 3, (2012) 1050–1054
- [8] Manisha Masih, Tanushree Banerjee, Bhaskar Banerjee, Anita Pal, Antidiabetic Activity of *Acalypha indica* Linn. on Normal and Alloxan Induced Diabetic Rats, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 3, (2011) 51–54

- [9] Ewelina Pióro-Jabrucka, Anna Pawełczak, Jarosław L. Przybył, Katarzyna Bączek, Zenon Węglarz, Accumulation of phenolic and sterol compounds in *Euphorbia hirta* (L.), *Herba Polonica*, 57, 2, (2011) 30-36
- [10] E. Jawetz, Mikrobiologi Kedokteran, 23rd ed., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2007.
- [11] Michael J. Pelczar, E. C. S. Chan, Dasar-dasar mikrobiologi, R.S. Hadioetomo, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1988.
- [12] David Greenwood, Antimicrobial Chemotherapy, 3rd ed., Oxford University Press, 1995.
- [13] Mohamed Sham Shihabudeen, Hansi Priscilla, D. Kavitha Thirumurugan, Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medicinal plants, *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 1, 10, (2010) 430-434
- [14] Audrey M. Glauert, J. T. Dingle, J. A. Lucy, Action of Saponin on Biological Cell Membranes, *Nature*, 196, (1962) 953 10.1038/196953a0



## Bioelectricity of Various Carbon Sources on Series Circuit from Microbial Fuel Cell System using *Lactobacillus plantarum*

Mufid Ainun<sup>a</sup>, Linda Suyati<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: [linda\\_suyati@live.undip.ac.id](mailto:linda_suyati@live.undip.ac.id)

### Article Info

#### Keywords:

Carbon source,  
 Microbial Fuel Cell,  
*Lactobacillus plantarum*, series circuit

#### Kata Kunci:

Sumber karbon,  
 Microbial fuel cell,  
*Lactobacillus plantarum*, rangkaian seri

### Abstract

Study on bioelectricity various carbon sources on the circuit series Microbial Fuel Cell using *Lactobacillus plantarum* has been conducted. This study aims to determine the electrical energy generated by various types of substrates in MFC and determine the effect of a series circuit of the electrical energy produced using *Lactobacillus plantarum*. The research stage consisted of preparation stages MFC components, electrical power measurements on variations in the type of substrate, and the measurement of electrical power in series circuit variation. Electrical power measurements were performed on a variety of substrate types by comparing the electrical power generated by the fructose, lactose and starch substrates while the electric power measurements with series variations are used in single series, series 2 and series 3. The results of the maximum electrical power measurement on the variation of fructose, lactose and starch substrate in MFC system using *Lactobacillus plantarum* were obtained respectively 10,26 mW; 63 mW and 27.47 mW. The maximum electric power generated in the MFC system uses *Lactobacillus plantarum* in a single circuit, series 2, series 3 series with lactose substrate obtained respectively of 63 mW, 164.74 mW and 290.51 mW. The measurement of electrical power showed that the lactose substrate produces a greater power than the other substrates. Series circuit capable of increasing electrical power in MFC system.

### Abstrak

Penelitian tentang bioelektrisitas berbagai sumber karbon pada rangkaian seri sistem *Microbial Fuel Cell* menggunakan *Lactobacillus plantarum* telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan energi listrik yang dihasilkan oleh berbagai jenis substrat dalam sistem MFC dan menentukan pengaruh rangkaian seri terhadap energi listrik yang dihasilkannya menggunakan *Lactobacillus plantarum*. Tahapan penelitian meliputi preparasi komponen MFC, pengukuran daya listrik pada variasi jenis substrat, dan pengukuran daya listrik pada variasi rangkaian seri. Pengukuran daya listrik pada variasi jenis substrat yaitu membandingkan antara daya listrik yang dihasilkan oleh substrat fruktosa, laktosa dan amilum sedangkan pengukuran daya listrik dengan variasi rangkaian seri digunakan rangkaian tunggal, seri 2 dan seri 3. Hasil pengukuran daya listrik maksimum pada variasi substrat fruktosa, laktosa dan amilum dalam sistem MFC menggunakan *Lactobacillus plantarum* berturut-turut sebesar 10,26 mW; 63 mW dan 27,47 mW. Daya listrik maksimum yang dihasilkan dalam sistem MFC menggunakan *Lactobacillus plantarum* pada rangkaian tunggal, rangkaian seri 2, rangkaian seri 3 dengan substrat laktosa secara berturut-turut sebesar 63 mW, 164,74 mW dan 290,51 mW. Pengukuran daya listrik tersebut menunjukkan bahwa substrat laktosa menghasilkan daya yang lebih besar dibandingkan dengan substrat yang lain. Rangkaian seri mampu meningkatkan daya listrik pada sistem MFC.

## 1. Pendahuluan

Senyawa organik di alam menyimpan sejumlah energi yang besar dalam bentuk biomassa, namun belum dieksplorasi secara optimal dan menjadi objek degradasi mikroba. Salah satu cara untuk mengeksplorasi substrat biologis ini adalah dengan mendegradasinya untuk pembangkitan listrik menggunakan sel bahan bakar mikroba atau *microbial fuel cell* (MFC). MFC memanfaatkan aktivitas katabolik dari sel-sel hidup (biokatalis) untuk mengubah energi kimia menjadi listrik [1].

Teknologi *microbial fuel cell* (MFC) adalah pendekatan yang menjanjikan untuk menghasilkan bioelektrisitas dari biomassa menggunakan mikroba [2]. Permintaan energi saat ini telah membuat khawatir seluruh dunia dan MFC ini telah menjadi kajian yang menarik didalam kalangan ilmuwan sebagai salah satu cara untuk menghasilkan bioenergi atau hidrogen dari biomassa tanpa menimbulkan masalah pencemaran lingkungan. Jenis mikroba di ruang anodik, bentuk sel bahan bakar MFC dan kondisi operasi mempengaruhi faktor-faktor tertentu seperti power output dan efisiensi coulomb [3].

Pengembangan sel bahan bakar mikroba masih dalam masa pertumbuhan dengan kebutuhan perbaikan yang cukup sehubungan dengan output daya dan substrat yang mudah dijangkau [4, 5]. Senyawa organik di alam dapat berupa senyawa molekul rendah hingga senyawa makromolekul. Senyawa-senyawa tersebut yaitu monosakarida seperti fruktosa, disakarida seperti laktosa, dan bahkan karbohidrat kompleks seperti pati (amilum). Choi dkk memanfaatkan fruktosa, laktosa, dan pati sebagai sumber karbon dengan biokatalis bakteri *Micrococcus luteus* [6].

Teknologi ini mengubah energi yang tersimpan dalam senyawa organik menjadi energi listrik melalui reaksi katalitik mikroorganisme. Hal ini telah menarik perhatian banyak peneliti di bidang sains. Dalam eksperimen terbaru, *microbial fuel cell* menggunakan kultur murni menunjukkan hasil pembangkitan tenaga listrik yang dicapai tidak sama dengan menggunakan kultur campuran. MFC dioperasikan dengan menggunakan kultur bakteri campuran mencapai kerapatan arus yang lebih besar dibandingkan dengan kultur murni [7].

Analisis populasi bakteri dari mikroorganisme yang ada di MFC sejauh ini telah diteliti dengan jenis bakteri yang bervariasi [3]. Fernandez dan Vega telah menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, and *Erwinia dissolvens* dalam sistem MFC menggunakan substrat glukosa [8] dan *Lactobacillus bulgaricus* juga telah digunakan dalam sistem MFC oleh Arbianti [9]. Penelitian tersebut telah menunjukkan bahwa jenis bakteri asam laktat (BAL) memiliki potensi sebagai biokatalisator untuk aplikasi MFC.

Kinerja MFC dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain substrat, membran penukar proton, kecepatan degradasi substrat, kecepatan transfer proton dan elektron dalam larutan serta rangkaian listrik [10].

Sistem MFC dengan rangkaian seri berkaitan dengan besar tegangan yang dihasilkan, dengan rangkaian seri akan menghasilkan tegangan lebih besar dibanding dengan rangkaian tunggal [9].

Penggunaan rangkaian seri sudah dilakukan oleh Jafary dkk menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan glukosa sebagai substrat dengan nafion 117 sebagai *proton exchange membrane* (PEM) mampu menghasilkan beda potensial maksimum sebesar 0,8 V pada rangkaian tunggal, dan beda potensial maksimum sebesar 1,2 V pada rangkaian seri [11]. Berdasarkan penelitian Jafary dkk tersebut menunjukkan bahwa rangkaian seri dapat meningkatkan beda potensial.

Dari uraian tersebut di atas maka pada penelitian ini menggunakan fruktosa, laktosa, dan amilum sebagai substrat yang juga berfungsi sebagai sumber karbon di kompar temen anoda untuk produksi bioelektrisitas dan mikroba jenis *Lactobacillus plantarum* sebagai biokatalisator dan menentukan pengaruh rangkaian seri terhadap energi listrik yang dihasilkan dalam sistem MFC tersebut.

## 2. Metode Penelitian

### Preparasi Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum*

Preparasi mikroorganisme dilakukan dengan menginokulasikan 1 mL bibit *Lactobacillus plantarum* dari stock ke dalam 100 mL media MRS (deMan Rogosa and Sharpe). Media MRS yang telah diinokulasi bibit mikroba diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

### Uji Karbohidrat pada Substrat

Uji karbohidrat digunakan metode uji seliwanooff untuk fruktosa, uji fehling untuk laktosa dan uji iod untuk amilum. Pada uji seliwanooff, satu buah tabung reaksi diisi dengan beberapa tetes larutan fruktosa, kemudian larutan ditambah dengan 5 mL pereaksi Seliwanooff. Uji fehling dilakukan dengan cara menambahkan pereaksi fehling yang terdiri dari fehling A yaitu larutan  $\text{CuSO}_4$  dan fehling B yang terdiri dari K-Na-tartrat dan NaOH ke dalam larutan, kemudian dipanaskan sambil digoyang. Pada uji iod, 1 mL larutan amilum ditambahkan dengan 5 tetes larutan iodin.

### Konstruksi MFC

Kompartemen MFC yang digunakan dalam penelitian ini adalah dua ruang kompartemen dengan volume masing-masing sebanyak 100 mL. Kedua kompartemen ini dihubungkan dengan jembatan garam. Elektroda yang digunakan adalah grafit dengan luas permukaan 13,29  $\text{cm}^2$ .

### Pengukuran Energi Listrik Pada Variasi Substrat

Substrat yang digunakan adalah 80 mL fruktosa, laktosa, dan amilum dengan konsentrasi masing-masing 0,8% (w/v). Substrat untuk eksperimen ditempatkan dalam kompartemen anoda dan ditambahkan 20  $\mu\text{L}$  inokulum *Lactobacillus plantarum* serta 20 mL buffer fosfat 0,2 M pH 7. Untuk kompartemen katoda berisi 80 mL larutan  $\text{KMnO}_4$  0,2 M yang ditambahkan dengan 20 mL buffer fosfat 0,2 M pH

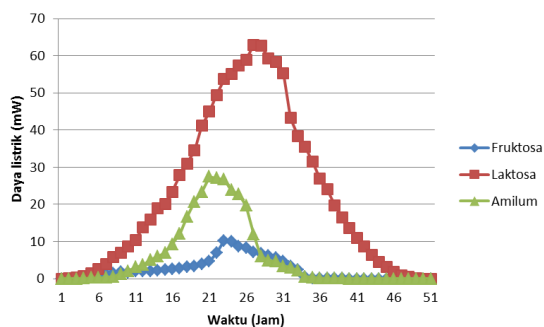
7. Kedua kompartemen diisi dengan elektroda grafit yang dihubungkan dengan rangkaian kabel pada multimeter digital, kemudian dilakukan pengamatan beda potensial dan arus listrik yang dihasilkan setiap jam selama 50 jam. Dan selanjutnya dilakukan pengukuran pada rangkaian seri 2 dan rangkaian seri 3.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Pengukuran Daya Listrik pada Variasi Jenis Substrat

Pada penelitian ini, kompartemen anoda dioperasikan tanpa menggunakan mediator elektron (*mediatorless*), dimana elektron yang dihasilkan dari degradasi senyawa organik oleh mikroba disalurkan secara langsung menuju elektroda tanpa melalui bantuan zat kimia tambahan. Beda potensial yang diukur dalam penelitian MFC ini disebut juga dengan *Open Circuit Voltage* (Tegangan Sirkuit Terbuka) karena sirkuit listrik dalam sistem MFC ini tidak diberikan beban atau hambatan listrik eksternal seperti resistor atau lampu.

Data kuat arus dan beda potensial yang diperoleh diolah untuk mendapatkan nilai daya listrik yang dapat mewakili produksi listrik yang dihasilkan oleh sistem MFC.



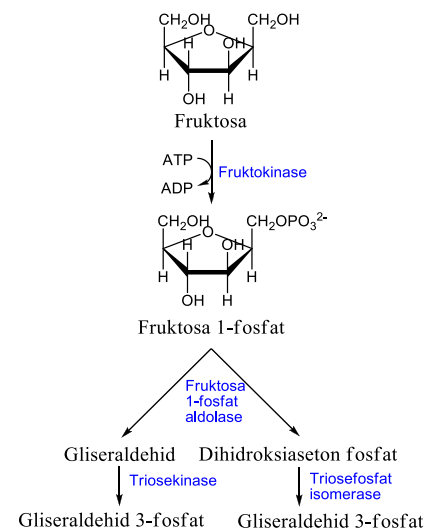
Gambar 1. Beda potensial variasi substrat

Berdasarkan data yang tersaji pada gambar 1 terlihat bahwa ketiga substrat yang digunakan yaitu fruktosa, laktosa dan amilum mampu menghasilkan energi listrik (daya). Daya maksimum untuk substrat fruktosa dihasilkan pada jam ke 22 sebesar 10,26 mW, untuk substrat laktosa daya maksimum dihasilkan pada jam ke 26 sebesar 63 mW, sedangkan amilum daya maksimum dihasilkan pada jam ke 20 yaitu sebesar 27,47.

Perbedaan waktu dari ketiga substrat untuk mencapai daya maksimum ini dipengaruhi oleh kekompleksan struktur molekul dan kemampuan *Lactobacillus plantarum* dalam mengkonsumsi ketiga substrat ini. Fruktosa adalah bentuk gula yang paling sederhana dibandingkan dengan ketiga substrat lainnya karena merupakan monosakarida, namun menghasilkan daya yang paling rendah. Hal ini disebabkan karena kemampuan *Lactobacillus plantarum* dalam menghasilkan enzim fruktokinase kurang.

Fruktosa dimetabolisme melalui perubahan menjadi zat antara glikolisis. Pertama, enzim fruktokinase melakukan fosforilasi terhadap fruktosa.

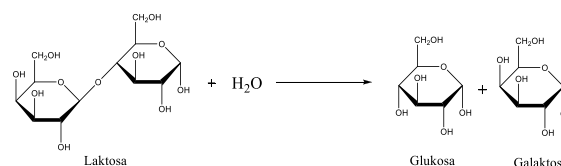
Fruktosa 1-fosfat diputuskan oleh enzim fruktosa 1-fosfat aldolase menjadi dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehid, dan gliseraldehid mengalami fosforilasi oleh suatu enzim triosa kinase. Baik dihidroksiaseton fosfat maupun gliseraldehid 3-fosfat adalah zat antara pada jalur glikolitik dan dapat masuk ke dalam jalur tersebut untuk menjadi piruvat sebagaimana tersaji pada gambar 2.



Gambar 2. Reaksi metabolisme fruktosa

Piruvat hasil dari penguraian fruktosa dalam reaksi glikolisis selanjutnya masuk ke dalam siklus kreb, kemudian dilanjutkan ke rantai transfer elektron dan fosforilasi oksidatif menghasilkan sejumlah elektron dan ATP.

Amilum adalah polisakarida yang terdiri dari banyak glukosa, sehingga mikroba membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mengkonsumsinya karena harus memecah amilum menjadi maltosa dan dekstrin-dekstrin terlebih dahulu dengan bantuan enzim  $\alpha$ -amilase. Namun, ini hanya terjadi pada fase awal reaksi metabolisme karena pada tahap selanjutnya amilum telah dipecah menjadi glukosa sehingga lebih mudah dikonsumsi oleh bakteri *Lactobacillus plantarum*. Glukosa hasil hidrolisis tersebut akan diuraikan menjadi piruvat melalui reaksi glikolisis yang selanjutnya masuk ke siklus kreb dan diteruskan ke dalam rantai transfer elektron dan fosforilasi oksidatif menghasilkan sejumlah elektron dan proton.

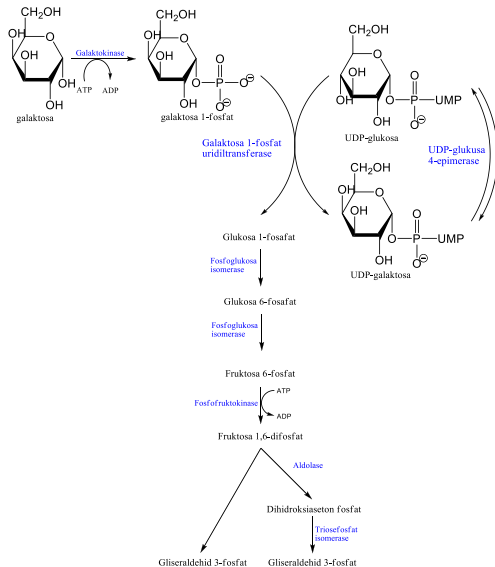


Gambar 3. Reaksi hidrolisis laktosa

Daya listrik tertinggi dihasilkan oleh substrat yang ketiga yaitu laktosa. Laktosa merupakan gula bentuk disakarida dan jenis gula yang mudah dimetabolisme oleh bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum*, sehingga akan sangat mudah dalam mengkonsumsinya. Pada proses metabolisme, laktosa akan dihidrolisis

menjadi molekul sederhana yaitu glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase (gambar 3).

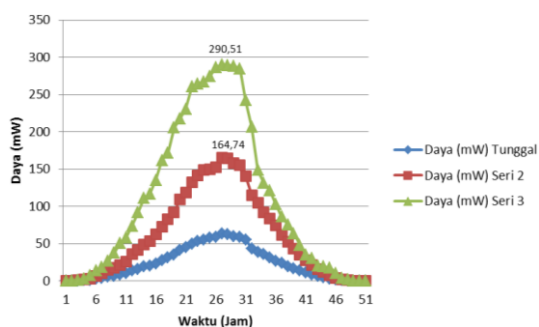
Galaktosa difosforilasi menjadi galaktosa 1-fosfat dengan bantuan enzim galaktokinase dan dapat diubah menjadi glukosa 1-fosfat. Kemudian glukosa 1-fosfat diubah menjadi glukosa 6-fosfat dan selanjutnya masuk ke jalur glikolitik (gambar 4)



Gambar 4. Reaksi metabolisme galaktosa

**Daya Listrik pada Variasi Rangkaian Seri**

Substrat yang menghasilkan daya listrik tertinggi, yaitu laktosa, selanjutnya dilakukan pengukuran daya listrik pada variasi rangkaian seri. Tujuannya adalah menentukan pengaruh rangkaian seri terhadap energi listrik yang dihasilkan. Jenis rangkaian yang digunakan pada sistem MFC ini adalah rangkaian tunggal, rangkaian seri 2 dan rangkaian seri 3.



Gambar 5. Daya listrik substrat laktosa pada variasi rangkaian seri

Pengukuran beda potensial dan arus listrik pada penelitian ini menggunakan sistem Open Circuit Voltage (Tegangan Sirkuit Terbuka), dimana dalam sistem MFC ini tidak diberi beban atau hambatan listrik eksternal seperti lampu atau resistor. Data kuat arus dan beda potensial yang diperoleh tersebut diolah untuk mendapatkan nilai daya yang dapat mewakili produksi listrik yang dihasilkan sistem oleh sistem MFC.

Berdasarkan gambar 5 menunjukkan bahwa daya listrik yang dihasilkan pada rangkaian seri dengan

rangkaian tunggal berbeda. Daya listrik maksimum yang dihasilkan pada rangkaian tunggal, seri 2 dan seri 3 berturut-turut adalah 63 mW; 164,74 mW; dan 290,51 mW pada jam ke 26. Rangkaian seri merupakan gabungan dari rangkaian tunggal sehingga nilai beda potensialnya pun lebih besar dari rangkaian tunggal, maka akan meningkatkan daya listrik maksimum yang dihasilkan juga.

**4. Kesimpulan**

Energi listrik maksimum yang dihasilkan pada variasi substrat fruktosa, laktosa dan amilum dalam sistem MFC menggunakan *Lactobacillus plantarum* berturut-turut sebesar 10,26 mW; 63 mW dan 27,47 mW. Rangkaian seri mampu meningkatkan daya listrik pada sistem MFC, dimana pada rangkaian tunggal, rangkaian seri 2, rangkaian seri 3 dengan substrat laktosa secara berturut-turut sebesar 63 mW; 164,74 mW dan 290,51 mW.

**5. Daftar Pustaka**

- [1] Juliane Niessen, Uwe Schröder, Fritz Scholz, Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation – a bacterial fuel cell operating on starch, *Electrochemistry Communications*, 6, 9, (2004) 955-958 <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2004.07.010>
- [2] Bruce E. Logan, Bert Hamelers, René Rozendal, Uwe Schröder, Jürg Keller, Stefano Freguia, Peter Aelterman, Willy Verstraete, Korneel Rabaey, Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology, *Environmental Science & Technology*, 40, 17, (2006) 5181-5192 <http://doi.org/10.1021/es0605016>
- [3] Zhuwei Du, Haoran Li, Tingyue Gu, A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy, *Biotechnology Advances*, 25, 5, (2007) 464-482 <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.05.004>
- [4] Farida Zulfah Fitriani, Linda Suyati, Wasino Hadi Rahmanto, Pengaruh Konsentrasi Substrat Maltosa terhadap Potensial Listrik Baterai *Lactobacillus bulgaricus* (MFC), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20, 2, (2017) 74-78 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.20.2.74-78>
- [5] Desvita Sari, Linda Suyati, Didik Setiyo Widodo, Pengaruh Buffer Kalium Fosfat dan Natrium Fosfat terhadap Produksi Listrik dalam Sistem Microbial Fuel Cell (MFC) dengan *Lactobacillus bulgaricus* pada Whey Tahu, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19, 3, (2016) 107-110 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.19.3.107-110>
- [6] Youngjin Choi, Eunyoung Jung, Hyunjoo Park, Seunho Jung, Sunghyun Kim, Effect of Initial Carbon Sources on the Performance of a Microbial Fuel Cell Containing Environmental Microorganism *Micrococcus luteus*, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 28, 9, (2007) 1591-1594
- [7] Vanita Roshan Nimje, Chien-Yen Chen, Hau-Ren Chen, Chien-Cheng Chen, Yuh Ming Huang, Min-Jen Tseng, Kai-Chien Cheng, Young-Fo Chang, Comparative bioelectricity production from various wastewaters in microbial fuel cells using mixed cultures and a pure strain of *Shewanella oneidensis*,



- Bioresource Technology*, 104, (2012) 315-323  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.129>
- [8] Carmen A. Vega, Ivonne Fernández, Mediating effect of ferric chelate compounds in microbial fuel cells with *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, and *Erwinia dissolvens*, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 17, 2, (1987) 217-222  
[https://doi.org/10.1016/0302-4598\(87\)80026-0](https://doi.org/10.1016/0302-4598(87)80026-0)
- [9] 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  
<http://doi.org/10.7454/mst.v17i1.1925>
- [10] Hong Liu, Shaoan Cheng, Bruce E. Logan, Production of Electricity from Acetate or Butyrate Using a Single-Chamber Microbial Fuel Cell, *Environmental Science & Technology*, 39, 2, (2005) 658-662 <http://doi.org/10.1021/es048927c>
- [11] Tahere Jafary, Mostafa Rahimnejad, Ali Asghar Ghoreyshi, Ghasem Najafpour, Fahime Hghparast, Wan Ramli Wan Daud, Assessment of bioelectricity production in microbial fuel cells through series and parallel connections, *Energy Conversion and Management*, 75, (2013) 256-262  
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.06.032>



## Zeolite and Charcoal as Potential Adsorbents in Tubs of Oxydation Ditch I and Oxydation Ditch II at Water Treatment and Composting Plant (WTCP) PT. Djarum Kudus

Rissa Kharismawati<sup>a\*</sup>, Redi Joko Prasetyo<sup>b</sup>, Yayuk Astuti<sup>a</sup>

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

\* Corresponding author: [rissaakharisma@gmail.com](mailto:rissaakharisma@gmail.com)

Article Info	Abstract
<p><b>Keywords:</b>            adsorbent,            adsorption, zeolite,            charcoal, chalk,            spectrophotometry,            pH, COD</p>	<p>This study aims to determine the mass of zeolite and charcoal required as lime nutrient adsorbent (<math>\text{Ca}(\text{OH})_2</math>) in reducing pH, TSS, COD, and SV values in tubs of oxidation of ditches I and II in Water Treatment and Composting Plant (WTCP) PT. Djarum Kudus with the principle of adsorption. The methods used were jar test and spectrophotometry. The adsorbents used were chalk (<math>\text{Ca}(\text{OH})_2</math>), zeolite, and charcoal added to the tub samples of oxydation ditch I and oxidation ditch II by variation of mass for every adsorbent, that were 2 gram, 4 gram and 6 gram. The results showed that zeolite and charcoal were more effective than charchoal in lowering pH, COD, TSS and SV values in tubs of oxidation ditches I and II on the addition of 6 gram in 500 ml of sample.</p>
<p><b>Kata Kunci:</b>            adsorben, adsorpsi,            zeolit, charcoal,            chalk,            spektrofotometri,            pH, COD.</p>	<p><b>Abstrak</b></p> <p>Penelitian ini bertujuan untuk menentukan massa zeolit dan <i>charcoal</i> yang ditambahkan sebagai adsorben pengganti kapur (<math>\text{Ca}(\text{OH})_2</math>) dalam penurunan nilai pH, TSS, COD, dan SV pada bak <i>oxydation ditch</i> I dan II di <i>Water Treatment and Composting Plant</i> (WTCP) PT. Djarum Kudus dengan prinsip adsorpsi. Metode yang digunakan dalam percobaan ini adalah jar test dan spektrofotometri. Sampel yang diuji adalah kapur (<math>\text{Ca}(\text{OH})_2</math>), zeolit, dan <i>charcoal</i> yang ditambahkan pada sampel bak <i>oxydation ditch</i> I dan <i>oxydation ditch</i> II dengan variasi massa untuk seluruh adsorben 2 gram, 4 gram, dan 6 gram. Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan diketahui bahwa zeolit dan <i>charcoal</i> efektif dalam menggantikan peran kapur sebagai adsorben dalam menurunkan nilai pH, COD, TSS dan SV pada bak <i>oxydation ditch</i> I dan II pada penambahan 6 gram dalam 500 ml sampel.</p>

### 1. Pendahuluan

PT Djarum Oasis Kudus merupakan salah satu jenis industri yang bergerak dalam bidang produksi rokok. Produk rokok dihasilkan dari bahan baku utama yaitu cengkeh dan tembakau. Proses pembuatan rokok tersebut menghasilkan berbagai macam limbah. Limbah yang dihasilkan dari proses pembuatan rokok terdiri dari tiga jenis air kotor. Tiga jenis air kotor tersebut adalah air kotor domestik (berasal dari aktivitas dapur, kamar mandi dan mushola), air kotor *casing* (berasal dari pencucian alat-alat produksi dan sisa pencampuran saos pada rokok) dan air kotor *clove* (berasal dari proses

*steam cengkeh*). Proses pengolahan air kotor di PT Djarum dikelola oleh unit *Water Treatment and Composting Plant* (WTCP), dengan sistem pengolahan menggunakan lumpur aktif (*Activated Sludge*).

Bak *oxydation ditch* (OD) adalah bak biologis, karena pada bak ini menggunakan bakteri aerobik untuk mendegradasi bahan-bahan organik yang terdapat pada air kotor. Pada bak ini, air kotor yang berasal dari bak turbo *coagulator* dan bak domestik dimasukkan melalui inlet yang kemudian terbagi menjadi bak *oxydation ditch* 1 dan *oxydation ditch* 2 dan juga dilakukan proses aerasi menggunakan *mammoth rotor*. Saat ini, PT Djarum Oasis

Kudus menggunakan kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) sebagai koagulan dalam bak OD 1 dan OD 2, namun pH yang dihasilkan sekitar 10–11 (belum optimal). Nilai pH tersebut dikarenakan kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) adalah basa dengan kekuatan sedang sehingga akan menghasilkan pH pada keadaan basa.

Hasil penjernihan limbah pada bak *oxydation ditch* I dan II dengan penambahan kapur kurang optimal dalam menurunkan nilai pH karena limbah masih menunjukkan pH 10–11 sehingga tidak bisa dialirkan ke lingkungan karena masih membahayakan. Menurut Peraturan Daerah Jawa Tengah No.5 Tahun 2012 tentang Baku Mutu Limbah Cair untuk Industri Rokok, nilai pH maksimum yaitu 6–9 [1]. Salah satu usaha penanggulangan dampak dari limbah industri terhadap lingkungan sekitar yaitu melakukan pengolahan limbah dengan metode adsorpsi. Adsorpsi merupakan proses penyerapan yang terjadi pada permukaan suatu padatan (zat lain) [2]. Keuntungan dari metode adsorpsi yaitu mudah dilakukan, juga efektivitasnya cukup tinggi dan biaya yang diperlukan cukup rendah [3]. Zat padat pada proses adsorpsi ini disebut sebagai adsorben, sedangkan molekul lain yang terserap pada permukaan zat pada disebut sebagai adsorbat. Beberapa contoh adsorben (zat penyerap) yang dapat digunakan pada proses adsorpsi adalah karbon aktif [4], silika dan alumina, zeolit [5], arang tulang, dan oksida-oksida logam [6]. Pada penelitian ini menggunakan adsorben zeolit dan karbon aktif (*charcoal*). Karbon aktif adalah karbon yang diproses sedemikian rupa sehingga pori-porinya terbuka, dan dengan demikian akan mempunyai daya serap yang tinggi. Karbon aktif merupakan karbon yang akan membentuk amorf, yang sebagian besar terdiri dari karbon yang bebas serta memiliki permukaan dalam (internal surface), sehingga mempunyai daya serap yang baik [7]. Sedangkan, zeolit adalah kristal aluminasilikat hidrat dengan struktur kerangka tiga dimensi yang tersusun atas tetrahedral ( $\text{SiO}_4$ )<sup>4-</sup> dan ( $\text{AlO}_4$ )<sup>5-</sup> dengan atom oksigen sebagai penghubungnya. Melimpahnya zeolit alam di Indonesia memberikan peluang menggunakannya untuk berbagai aplikasi [8]. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan membahas pemanfaatan zeolit dan *charcoal* (Arang aktif) yang berasal dari pohon trembesi yang sudah tua sebagai adsorben pengganti kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) pada bak OD 1 dan 2 dengan variasi massa yang ditambahkan dan menggunakan parameter nilai pH, SV, COD, dan TSS.

## 2. Metode Penelitian

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah sampel berupa limbah cair yang diperoleh dari *oxydation ditch* I dan II, zeolit teraktivasi, *charcoal*, kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), aquades, dan reagen COD.

### Penghalusan Zeolit dan *Charcoal*

Zeolit (masih dalam bentuk kasar) dihaluskan dengan mortar dan stamper untuk memperluas permukaan. Lalu, zeolit dari hasil tumbukkan diayak dengan menggunakan saringan. Selanjutnya, zeolit yang telah halus dimasukkan dalam plastik klip.

Dilakukan pengulangan langkah 1–3 dengan menggunakan bahan *charcoal*.

### Pengaktivasian Zeolit

Zeolit yang telah halus di letakkan dalam loyang lalu dimasukkan dalam oven. Zeolit diaktivasi dengan metode sonikasi yaitu dilakukan dengan suhu 300°C selama 3 jam. Setelah 3 jam, dilakukan pengambilan zeolit dalam oven lalu di dapatkan hasil zeolit yang teraktivasi.

### Adsorpsi Sampel *Oxydation Ditch* I

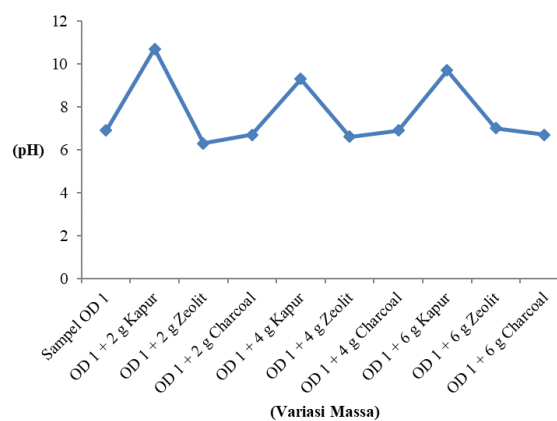
Sampel limbah dari *oxydation ditch* I dimasukkan ke dalam gelas beker masing-masing 500 ml. Lalu, ditambahkan kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), zeolit, dan *charcoal* terhadap sampel *oxydation ditch* I dengan variasi massa yang ditambahkan 2 gram, 4 gram, 6 gram, serta 0 gram sebagai control. Kemudian dilakukan jar test selama 10 menit pada 200 rpm. Selanjutnya dilakukan pengukuran *sludge volume* (SV) dengan gelas ukur 1000 ml selama 30 menit, pengukuran pH dengan pH meter, pengukuran TSS dan COD dengan spektrofotometer. Langkah ini juga dilakukan terhadap sampel limbah dari *oxydation ditch* II.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan massa zeolit dan *charcoal* yang ditambahkan sebagai adsorben pengganti kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dalam penurunan nilai pH, TSS, COD, dan SV pada bak *oxydation ditch* I dan II.

### Bak *Oxydation Ditch* 1

#### Nilai pH

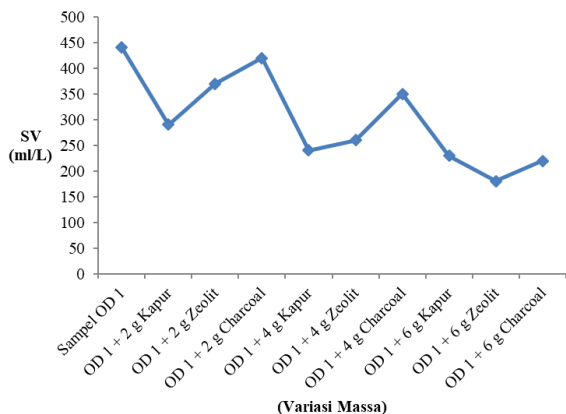


Gambar 1 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan *charcoal* terhadap pH

Gambar 1 menunjukkan bahwa penambahan kapur belum mampu menurunkan pH (menetralkan pH) pada sampel. Terlihat pada pH pada saat penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  sebelum penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , pH awal sampel yaitu 6.9 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  2 gram pH berubah menjadi 10.7, penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  4 gram pH sebesar 9.3, dan 6 gram pH sebesar 9.7. Saat penambahan zeolit 2 gram pH menjadi 6.7, penambahan zeolit 4 gram menjadi 6.6, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 7.0. Lalu saat penambahan zeolit 2 gram *charcoal* pH menjadi 6.7, penambahan 4 gram *charcoal* pH menjadi 6.9, dan saat

penambahan 6 gram menjadi 6.7. pH pada bak *oxydation ditch* perlu dioptimalkan agar mikroba dapat bekerja secara maksimal dan pH tetap optimal ketika di alirkan ke dalam bak *clarifier*. Berdasarkan grafik di atas, *charcoal* dan zeolit efektif dalam menurunkan nilai pH dibandingkan dengan kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )

Nilai *Sludge Volume* (SV)



Gambar 2 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan *charcoal* terhadap SV

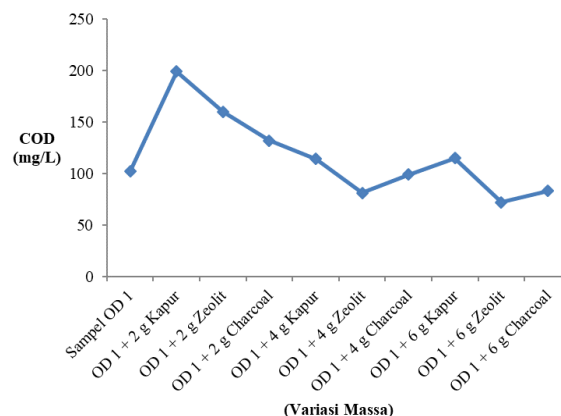
Gambar 2 menunjukkan bahwa penambahan kapur mampu menurunkan SV tetapi belum optimal pada sampel. Terlihat nilai SV pada saat penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  sebelum penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , SV awal sampel yaitu 440 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  2 gram SV berubah menjadi 290, penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  4 gram SV sebesar 240, dan 6 gram SV sebesar 230. Saat penambahan zeolit 2 gram SV menjadi 370, penambahan zeolit 4 gram menjadi 260, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 180. Lalu saat penambahan 2 gram *charcoal* SV menjadi 420, penambahan 4 gr *charcoal* SV menjadi 350, dan saat penambahan 6 gram menjadi 220. Semakin rendah nilai SV maka semakin efektif. Dilihat dari grafik diatas zeolit dan *charcoal* sudah optimal dalam menurunkan nilai SV. Hasil nilai SV di atas dapat diurutkan yang efektif dapat menurunkan nilai SV yaitu zeolit, *charcoal*, lalu kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

Nilai COD

Gambar 3 menunjukkan bahwa penambahan kapur belum mampu menurunkan COD pada sampel. Terlihat nilai COD pada saat penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dan sebelum penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , COD awal sampel yaitu 102 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  2 gram COD berubah menjadi 199, penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  4 gram COD sebesar 141, dan 6 gram COD sebesar 115. Saat penambahan zeolit 2 gram COD menjadi 160, penambahan zeolit 4 gram menjadi 81, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 72. Lalu saat penambahan 2 gram *charcoal* COD menjadi 132, penambahan 4 gram *charcoal* COD menjadi 99, dan saat penambahan 6 gram *charcoal*, nilai COD menjadi 83.

Nilai COD dapat mempengaruhi seberapa besar pencemaran yang terjadi pada lingkungan tersebut sehingga harus di dapatkan nilai COD yang tidak terlalu

tinggi. Berdasarkan grafik diatas, zeolit dan *charcoal* efektif dalam menurunkan nilai COD pada bak *oxydation ditch* I.

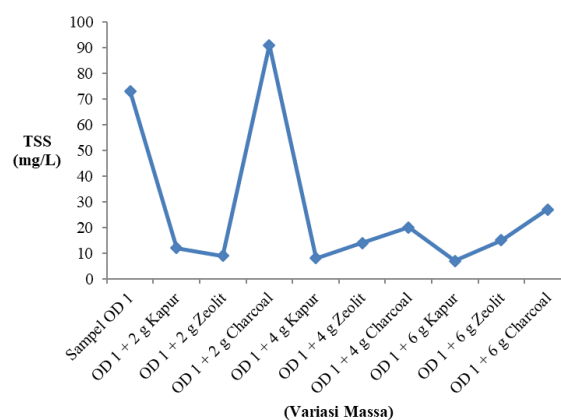


Gambar 3 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan *charcoal* terhadap COD

Nilai TSS

Gambar 4 menunjukkan bahwa penambahan kapur mampu menurunkan TSS pada sampel. Terlihat nilai TSS pada saat penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  sebelum penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , TSS awal sampel yaitu 73 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  2 gram TSS berubah menjadi 12, penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  4 gram TSS sebesar 8, dan 6 gram TSS sebesar 7. Saat penambahan zeolit 2 gram TSS menjadi 9, penambahan zeolit 4 gram menjadi 14, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 15. Lalu saat penambahan 2 gram *charcoal* TSS menjadi 91, penambahan 4 gram *charcoal* TSS menjadi 20, dan saat penambahan 6 gram menjadi 27.

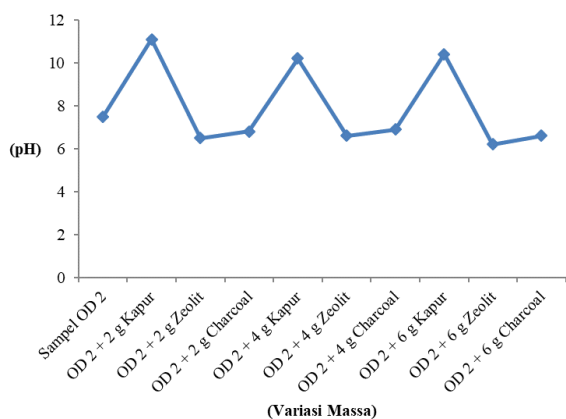
TSS merupakan padatan yang menyebabkan kekeruhan. Agar mendapatkan hasil air yang jernih maka harus mendapatkan nilai TSS yang rendah. Pada grafik diatas, *charcoal* dan zeolit kurang efektif menurunkan nilai TSS dibandingkan dengan kapur ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) tetapi nilai yang di dapat oleh *charcoal* dan zeolit tidak terlalu tinggi.



Gambar 4 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan *charcoal* terhadap TSS

Bak Oxydation Ditch II

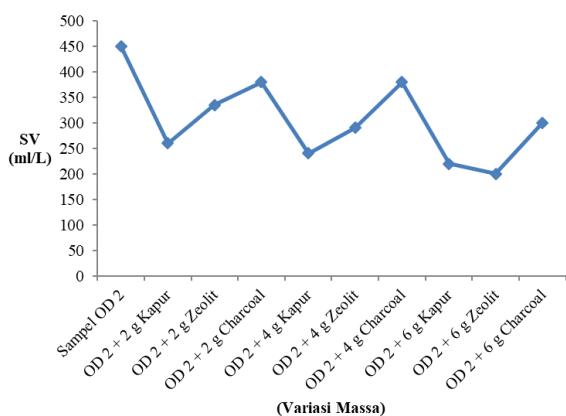
Nilai pH



Gambar 5 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan charcoal terhadap pH

Gambar 5 menunjukkan bahwa penambahan kapur belum mampu menurunkan pH (menetralkan pH) pada sampel. Terlihat pada nilai pH pada saat penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  sebelum penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$ , pH awal sampel yaitu 7.5 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  2 gram pH berubah menjadi 11.1, penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  4 gram pH sebesar 10.2, dan 6 gram pH sebesar 10.4. Saat penambahan zeolit 2 gram pH menjadi 6.5, penambahan zeolit 4 gram menjadi 6.6, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 6.2. Lalu saat penambahan 2 gram charcoal pH menjadi 6.8, penambahan 4 gram charcoal pH menjadi 6.9, dan saat penambahan 6 gram menjadi 6.6. Berdasarkan grafik di atas, charcoal dan zeolit efektif dalam menurunkan atau mengoptimalkan nilai pH dibanding dengan kapur ( $\text{Ca(OH)}_2$ )

Nilai Sludge Volume (SV)



Gambar 6 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan charcoal terhadap SV

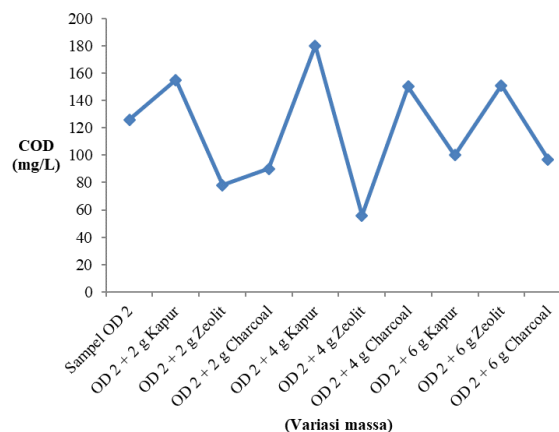
Gambar 6 menunjukkan bahwa penambahan kapur mampu menurunkan nilai SV pada sampel tetapi kurang optimal. Terlihat pada nilai SV saat penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  dan sebelum penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$ , SV awal sampel yaitu 450 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  2 gram SV berubah menjadi 260, penambahan

kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  4 gram SV sebesar 240, dan 6 gram SV sebesar 220. Saat penambahan zeolit 2 gram SV menjadi 335, penambahan zeolit 4 gram menjadi 290, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 200. Lalu saat penambahan 2 gram charcoal SV menjadi 380, penambahan 4 gram charcoal SV menjadi 380, dan saat penambahan 6 gram menjadi 300.

Berdasarkan hasil yang di dapatkan, zeolit dan charcoal memiliki nilai SV lebih kecil dari kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  tetapi jika dilihat dari selisih penurunan nilai SV, urutan yang paling besar yaitu zeolit (45-90 ml/L) > charcoal (80 ml/L) > kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  (20 ml/L). Sehingga zeolit dan charcoal efektif dalam menurunkan nilai SV.

Nilai COD

Gambar 7 menunjukkan bahwa penambahan kapur mampu menurunkan COD pada sampel tetapi belum optimal. Terlihat pada nilai COD saat penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  dan sebelum penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$ , COD awal sampel yaitu 126 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  2 gram COD berubah menjadi 155, penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  4 gram COD sebesar 180, dan 6 gram COD sebesar 100. Saat penambahan zeolit 2 gram COD menjadi 78, penambahan zeolit 4 gram menjadi 56, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 151. Lalu saat penambahan 2 gram charcoal COD menjadi 90, penambahan 4 gram charcoal COD menjadi 150, dan saat penambahan 6 gram menjadi 97.



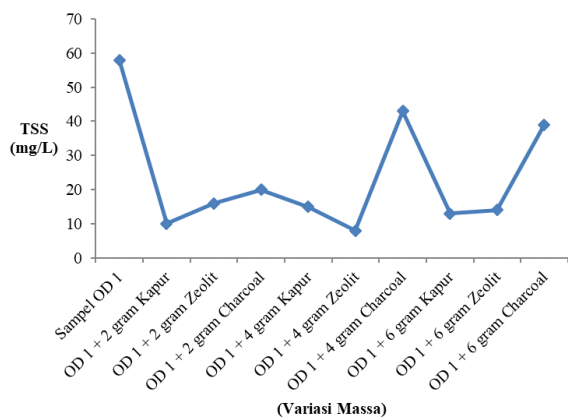
Gambar 7 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan charcoal terhadap COD

Hasil yang didapat menunjukkan bahwa material yang optimal dalam menurunkan nilai COD adalah zeolit tetapi pada penambahan zeolit 6 gram terdapat kenaikan nilai COD yang begitu besar dikarenakan kesalahan saat melakukan penelitian yaitu sampel OD 2 yang ditambah 6 gram zeolit dalam reagen COD secara tidak sengaja di homogenkan sehingga mengakibatkan nilai COD yang begitu besar dimana seharusnya nilai COD mengalami penurunan seperti pada nilai COD sampel oxydation ditch I.

Nilai TSS

Gambar 8 menunjukkan bahwa penambahan kapur mampu menurunkan TSS pada sampel tetapi belum optimal. Terlihat pada nilai TSS saat penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$  dan sebelum penambahan kapur  $\text{Ca(OH)}_2$ , TSS

awal sampel yaitu 58 dan setelah penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  2 gram TSS berubah menjadi 10, penambahan kapur  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  4 gram TSS sebesar 15, dan 6 gram TSS sebesar 13. Saat penambahan zeolit 2 gram TSS menjadi 16, penambahan zeolit 4 gram menjadi 8, dan penambahan zeolit 6 gram menjadi 13. Lalu saat penambahan 2 gram *charcoal* TSS menjadi 20, penambahan 4 gram *charcoal* TSS menjadi 43, dan saat penambahan 6 gram menjadi 39.



Gambar 8 Pengaruh penambahan kapur, zeolit, dan *charcoal* terhadap TSS

#### 4. Kesimpulan

Zeolit dan *charcoal* efektif dalam menggantikan peran kapur sebagai adsorben pada bak *oxydation ditch* I dan II dalam menurunkan nilai pH, COD, TSS dan SV pada penambahan 6 gram dalam 500 ml sampel.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Peraturan Daerah Jawa Tengah No.5 Tahun 2012 Tentang Perubahan Atas Peraturan Daerah Provinsi Jawa Tengah No.10 Tahun 2004 Tentang Baku Mutu Air Limbah., in: D.J. Tengah (Ed.), Semarang, 2012.
- [2] Devika Tesnar Winda, Rum Hastuti, Abdul Haris, Pengaruh Penambahan PVA-Sulfonasi pada Tongkol Jagung (*Zea Mays*) sebagai Adsorben Ion Logam  $\text{Pb}^{2+}$ , *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 1, (2014) 31-36
- [3] Sriyanti Sriyanti, Taslimah Taslimah, Evaluasi Model Langmuir-Hinshelwood untuk Kinetika Adsorpsi Besi(III) pada 2-Merkaptobenzotiazol-Zeolit Alam, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 7, 2, (2004) 39-45
- [4] Diana Nur Al-Latief, Arnelli, Yayuk Astuti, Synthesis of sodium lauryl sulphate (SLS)-modified activated carbon from risk husk for waste lead (Pb) removal, *AIP Conference Proceedings*, 1699, 1, (2015) 060017 <http://dx.doi.org/10.1063/1.4938371>
- [5] M. Alvien Ghifari, Arofah Nuraini, Dessy Permatasari, Nur Kamila, Teguh Imanullah, Yayuk Astuti, Nano-Zeolite Modification Using Cetylpyridinium Bromide for the Removal of Remazol Black B and Remazol Yellow G Dyes, *Advanced Science Letters*, 23, 7, (2017) 6502-6505 <http://dx.doi.org/10.1166/asl.2017.9667>
- [6] Motoyuki Suzuki, Adsorption engineering, Kodansha, 1990.

- [7] Titi Agustin, Nor Basid Adiwibawa Prasetya, Didik Setiyo Widodo, Sintesis Komposit  $\text{TiO}_2$ -Karbon Aktif untuk Fotokatalisis Larutan Zat Warna Direct Blue 19 dan Ion Logam  $\text{Pb}^{2+}$  dan  $\text{Cd}^{2+}$  secara Simultan, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 3, (2013) 102-107 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.16.3.102-107>
- [8] Marina Adriati, Ahmad Suseno, Taslimah Taslimah, Modifikasi Zeolit Alam Menggunakan Besi (Fe) dan Kobalt (Co) untuk Katalis Degradasi Fenol, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 1, (2013) 1-5 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.16.1.1-5>



## Chitosan succinate/PVA-PEG Membrane: Preparation, Characterization and Permeation Ability Test on Creatinine

Retno Ariadi Lusiana<sup>a\*</sup>, Vivi Dia Ahmad Sangkota<sup>a</sup>, Sri Juari Santosa<sup>b</sup>

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

<sup>b</sup> Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Gadjah Mada University, Yogyakarta

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

### Article Info

**Keywords:**  
 chitosan-succinate membranes; poly vinyl alcohol; poly ethylene glycol; permeation ability; creatinine

**Kata Kunci:**  
 membran kitosan-suksinat; poli vinil alkohol; poli etilen glikol; kemampuan permeasi; kreatinin

### Abstract

Evaluation character of chitosan membrane-succinate / poly vinyl alcohol-poly ethylene glycol (PVA-PEG) were prepared in acetic acid solvent through a phase inversion method has been performed. The study began with the preparation of crosslinked chitosan compounds with succinic acid, followed by preparation into membrane by combining PVA-PEG. Character analysis of the resulting material using FTIR, EDX, TGA, water absorption test, tensile strength, membrane hydrophilicity. The ability of membrane permeation was tested against creatinine. The results showed that the succinate had reacted with chitosan. Chitosan modification through cross link and polymer alloys increases tensile strength and membrane strain of 1.7-2.5 x of pure chitosan membrane. In addition, the modified membrane also has higher water absorption and hydrophilicity values than the unmodified membrane, and this implies the ability of membrane-induced creatinine permeation. Permeable permeation values were 13.8% in chitosan, 24.84% on chitosan-succinate and 25% in chitosan-succinate / PVA-PEG. Chitosan-succinate membranes have the ability to use more than 4x repeated use.

### Abstrak

Evalusi karakter dari membran kitosan-suksinat/poli vinil alkohol-poli etilen glikol (PVA-PEG) yang disiapkan dalam pelarut asam asetat melalui metoda inversi fasa telah dilakukan. Penelitian diawali dengan pembuatan senyawa kitosan yang bertaut silang dengan asam suksinat, dilanjutkan preparasi menjadi membran dengan memadukan menggunakan PVA-PEG. Analisis karakter dari material yang dihasilkan menggunakan FTIR, EDX, TGA, uji penyerapan air, kuat tarik, hidrofilitas membran. Kemampuan permeasi membran diujikan terhadap kreatinin. Hasil analisis menunjukkan bahwa suksinat telah bereaksi dengan kitosan. Modifikasi kitosan baik melalui taut silang dan paduan polimer meningkatkan kuat tarik dan regangan membran sebesar 1,7-2,5 x dari membran kitosan murni. Selain itu, membran termodifikasi juga memiliki nilai serapan air dan hidrofilitas yang lebih tinggi dibandingkan membran tanpa modifikasi, dan hal ini berimplikasi terhadap kemampuan permeasi kreatinin oleh membran. Nilai permeasi berturut-turut adalah 13,8% pada kitosan, 24,84% pada kitosan-suksinat dan 25% pada kitosan-suksinat/PVA-PEG. Membran kitosan-suksinat mempunyai kemampuan penggunaan lebih dari 4x pemakaian berulang.

### 1. Pendahuluan

Desain struktur membran sangat penting dalam mengembangkan membran dengan kinerja tinggi. Kitosan merupakan biopolimer yang dapat dijadikan

material dasar membran karena dapat larut dalam asam encer dan membentuk film tipis membran melalui proses inversi fase. Akan tetapi, membran kitosan *pure* tidak cukup reaktif terhadap senyawa target karena

kurangnya jumlah sisi aktif penangkap permeat. Pembuatan membran berbasis kitosan selanjutnya dikembangkan melalui modifikasi struktur dan permukaan dari kitosan [1].

Modifikasi struktur terhadap kitosan harus memperhatikan beberapa aspek, seperti: gugus fungsi [2], selektivitas dan fleksibilitas [3] material hasil modifikasi ketika diaplikasi sebagai membran permealasi. Dalam proses permealasi terhadap kreatinin oleh membran berbasis kitosan termodifikasi, dibutuhkan suatu *modifier* yang bisa menciptakan ikatan hidrogen yang cukup kuat antara kreatinin dengan sisi aktif, agar kreatinin dapat melewati membran dengan cepat [2, 4, 5]. Beberapa gugus fungsi telah digunakan sebagai *modifier* dalam proses permealasi kreatinin, seperti asam sitrat [1, 6], tripolifosfat [2, 7, 8].

Asam suksinat merupakan asam dikarboksilat, banyak digunakan untuk keperluan industri farmasi karena bersifat hidrofil dan non-toksik. Gugus karboksilat ( $-\text{COO}-$ ) dari asam suksinat akan berikatan dengan gugus  $-\text{NH}_2$  dari kitosan membentuk ikatan taut silang (*crosslink*) yang dapat menata jarak antara polimer kitosan satu dengan lainnya untuk membentuk struktur yang lebih rapi dalam bentuk struktur jaring. Struktur jaring yang tertata ini selanjutnya akan membuat kreatinin lebih mudah melewati membran. Selain itu adanya gugus  $-\text{O}$  bebas dari *modifier* akan berfungsi sebagai sisi aktif yang akan menangkap kreatinin secara selektif dan cepat.

Fleksibilitas membran dibutuhkan untuk menjaga stabilitas membran ketika berada dalam lingkungan berair dalam waktu tertentu. Modifikasi dengan gugus karboksilat meningkatkan hidrofilitas senyawa kitosan, karena adanya ikatan hidrogen dengan molekul air. Hidrofilitas yang terlalu tinggi dapat membuat membran akan rapuh dan mudah sobek. Untuk meningkatkan kekuatan mekanik senyawa yang akan dibuat menjadi membran, maka dilakukan pepaduan menggunakan polimer sintetik seperti poli vinil alkohol (PVA) poli etilen glikol (PEG) [9] dan poli vinil acetate [10].

Dalam penelitian ini dilakukan sintesis kitosan taut silang suksinat (CS-Suk), pepaduan menggunakan PVA/PEG untuk membuat membran melalui proses inversi fasa. Membran CS-Suk/PVA-PEG diuji kemampuan dan penggunaan berulang membran pada proses permealasi terhadap kreatinin.

## 2. Metodologi Penelitian

### Bahan

Kitosan dengan deasetilasi 89%, didapatkan dari PT Surindo Tech, Cirebon Indonesia. Asam suksinat, asam asetat, NaOH, kreatinin, buffer fosfat, poli vinil alkohol, poli etilen glikol asm pikrat didapatkan dari Merck.

### Persiapan Pembuatan Komposit Kitosan/Sitrat Dan Kitosan/Suksinat

Serbuk PVA/PEG dimasukkan dalam 100 mL akuades hangat diaduk selama 2 jam pada suhu  $\pm 60^\circ\text{C}$ .

Serbuk kitosan/suksinat dimasukkan ke 100 mL larutan asam asetat 1% dan diaduk menggunakan pengaduk magnet pada waterbath air mendidih selama 4 jam. Selanjutnya kedua larutan dicampur pada rasio tertentu (CS-Suk,75/PVA-PEG,25) untuk membuat membran CS-Suk/PVA-PEG. Membran dicetak menggunakan cawan petri, dan dikeringkan di oven pada suhu  $50-70^\circ\text{C}$ . Membran yang sudah kering dilepaskan dan dicuci dengan akuades sampai netral.

### Karakterisasi Membran

Karakterisasi: gugus fungsi membran menggunakan FTIR, EDX, stabilitas termal menggunakan TGA, serapan terhadap air, fleksibilitas dan kelenturan, ketebalan membran menggunakan *thicknessmeter*.

### Uji Permealasi Terhadap Kreatinin

Uji permealasi dilakukan menggunakan alat permealasi, yang di tengahnya terdapat sebuah membran. Fasa sumber berisi 50 mL larutan standar kreatinin 25 ppm dalam larutan buffer fosfat dan fasa akseptor berisi 50 mL buffer fosfat. Permealasi dilakukan selama 6 jam dengan setiap jam diambil 2 mL sampel dari fasa sumber dan akseptor yang kemudian dikompleks menggunakan asam pikrat dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 486 nm.

## 3. Hasil dan Pembahasan

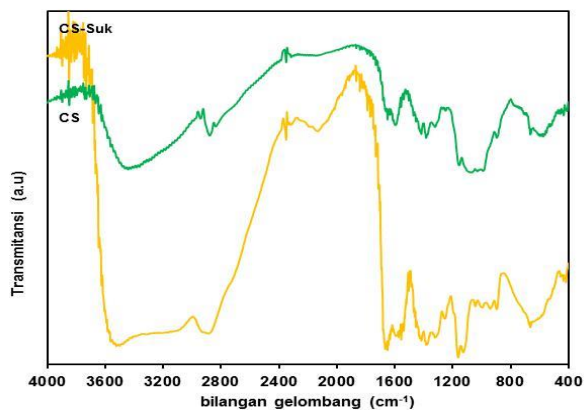
Seluruh membran yang dibuat memiliki kenampakan tipis, transparan, dengan tebal antara  $10^{-2} \pm 2$  mm. Ada beberapa metode pembuatan membran, diantara adalah *sintering*, *stretching*, *track-etching*, *template leaching* dan *inversi fasa*. Pada penelitian ini pembuatan membran dilakukan dengan proses inversi fasa. Inversi fasa adalah metode yang paling banyak digunakan dalam pembuatan membran polimer untuk proses pemisahan, karena kemudahan dan *reproducible* yang tinggi. Pada metode ini, polimer bentuk padatan diubah ke bentuk larutan dan kembali diubah ke bentuk padatan secara terkontrol pada suhu dan waktu tertentu. Proses pepadatan sangat sering diawali dengan perpindahan polimer dari suatu cairan (pelarut) ke cairan lain (non pelarut) dilanjutkan dengan evaporasi larutan berlebih. Fase dengan konsentrasi polimer yang tinggi dalam larutan polimer akan membentuk padatan atau matriks membran, sedangkan fase dengan konsentrasi polimer yang rendah akan membentuk pori-pori [11].

### Karakterisasi Kimia Senyawa Kitosan-Suksinat (CS-Suk)

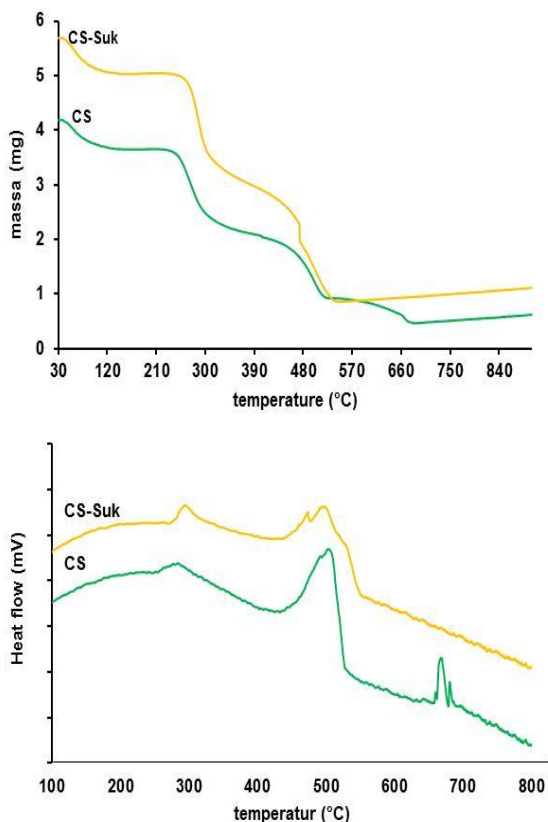
Keberhasilan taut silang antara kitosan dengan asam suksinat diperlihatkan oleh spektra pada Gambar 1. Pada spektra spesifik kitosan terlihat serapan pada daerah  $3400\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan serapan gugus  $-\text{OH}$  dan  $-\text{NH}$  yang berhimpit. Serapan kembar gugus  $-\text{NH}_2$  primer akan terlihat pada daerah  $1600$  dan  $1658\text{ cm}^{-1}$ . Serapan lemah di daerah  $1059\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan serapan gugus  $-\text{C}-\text{O}$ . Setelah mengalami reaksi taut silang, maka terjadi pergeseran serapan yang dapat



dilihat pada daerah sekitar 1750 cm<sup>-1</sup>, dimana serapan kembar -NH<sub>2</sub> akan hilang, sebagai gantinya muncul serapan tunggal gugus C=O. Pada daerah 3400 cm<sup>-1</sup> terjadi pergeseran serapan yang merupakan indikasi, perubahan gugus pada -NH primer menjadi -NH sekunder atau tersier. Selain itu, pada daerah 1060 dan 1025 cm<sup>-1</sup> muncul puncak yang cukup tajam, yang menunjukkan serapan gugus C-O dari asam suksinat yang menempel pada kitosan [2, 6, 12]



Gambar 1. Spektra FTIR membran kitosan dan kitosan-suksinat



Gambar 2. Termogram membran kitosan dan kitosan suksinat

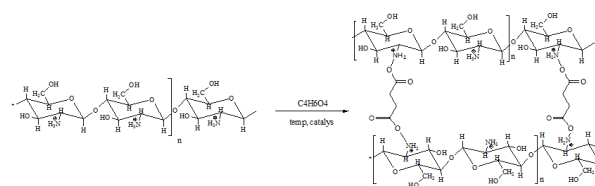
Analisis termogravimetri dilakukan pada kisaran temperatur antara 30-900°C dengan kecepatan kepanikan suhu 5°C/menit. Pada termogram terlihat perbedaan kisaran suhu pada penurunan berat stage pertama. Reaksi taut silang, membuat keteraturan jarak

dalam struktur polimer, keteraturan jarak membuat proses pemutusan ikatan menjadi lebih mudah dan menurunkan stabilitas termal senyawa modifikasi [13]. Untuk mempertegas interpretasi hasil reaksi cangkok dilakukan analisis elemen menggunakan EDX, seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase komposisi elemen membran

Membran	Karbon (%)	Oksigen (%)	Hidrogen (%)	Nitrogen (%)
CS	42,1	38,8	7,0	7,8
CS-Suk	42,2	40,0	6,0	7,1

Dari analisis data secara kimia, dapat digambarkan perkiraan reaksi kimia yang terjadi antara kitosan dengan asam suksinat, seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Perkiraan reaksi taut silang kitosan – asam suksinat

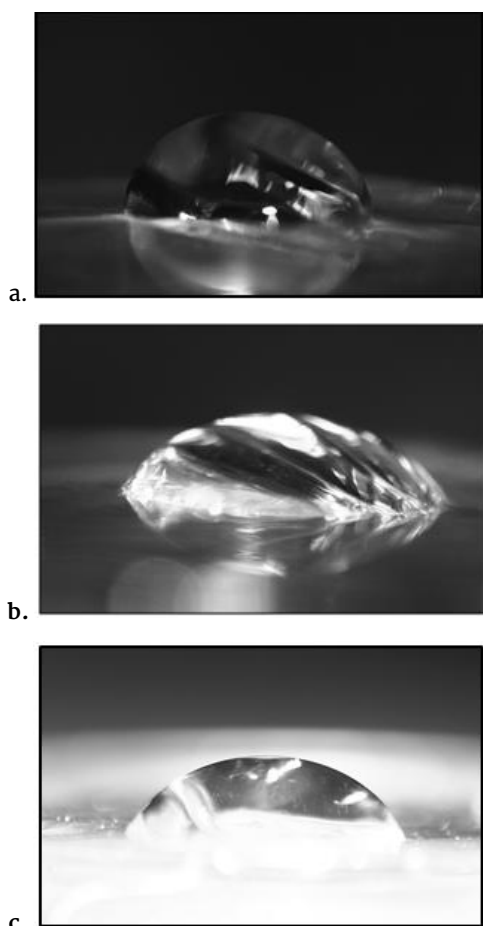
Karakterisasi Fisika Membran CS-Suk/PVA-PEG

1. Uji serapan terhadap air dan hidrofilitas membran

Uji serapan terhadap air merupakan uji penting untuk mengetahui karakter membran yang dibuat. Dalam proses permeasi, kreatinin dilarutkan dalam lingkungan air, oleh karena itu membran yang akan digunakan harus memiliki kemampuan serapan terhadap air agar mampu melakukan permeasi terhadap kreatinin. Dari data pada Tabel 1 terlihat bahwa proses modifikasi terhadap kitosan dengan senyawa suksinat, menaikkan kemampuan serapan air membran hingga 300%. Masuknya gugus -COOH dari suksinat dan -OH dari PVA dan PEG, membuat kemampuan membran berinteraksi dengan air meningkat, dengan terbentuknya ikatan hidrogen dengan molekul air [14, 15]. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa hidrofilitas membran meningkat. Hal ini juga tercermin dari nilai sudut kontak membran yang semakin menurun dari nilai sudut kontak kitosan.

Tabel 2. Karakteristik fisika membran

Membran	Sudut Kontak (°)	Serapan air (%)	Kuat tarik (MPa)	Regangan (%)
CS	85	89	1,40	16,8
CS-Suk	50	230	1,25	25,2
CS-Suk/PVA-PEG	45	250	1,25	42,0



Gambar 4. Sudut kontak membran kitosan (A), CS-Suk (B), CS-Suk/PVA-PEG (C)

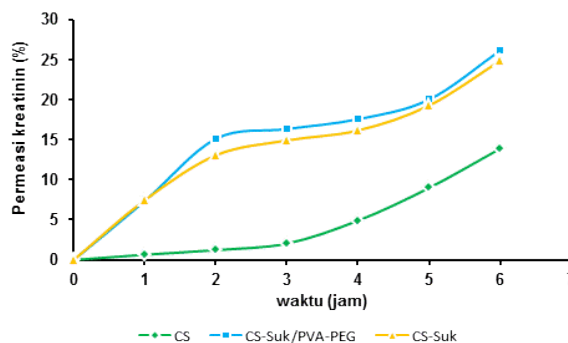
2. Uji regangan membran

Uji regangan dilakukan untuk mengetahui kekuatan regang dan fleksibilitas membran ketika diberi suatu gaya tarik dari luar, yang dapat merusak struktur membran. Semakin teratur struktur membran, maka membran akan mempunyai kuatan tarik dan regang yang tinggi. Dari data Tabel 2, terlihat bahwa reaksi taut silang meningkatkan kekuatan regang dari kitosan. Demikian juga ketika kitosan taut silang suksinat dipadukan dengan PVA-PEG, terlihat bahwa penambahan polimer sintetik ini menaikkan kekuatan mekanik membran dengan meningkatkan daya regang (fleksibilitas) membran menjadi 1,7 x dari kitosan-suksinat atau 2,5 x kekuatan regang membran kitosan. Hal ini, mengindikasikan bahwa taut silang membuat keteraturan jarak antara polimer satu dengan lainnya, sehingga ikatan interpolimer menjadi lebih kuat. Dengan kuatnya gaya interpolimer tersebut maka membran tidak mudah rusak oleh pemberian gaya dari luar [16].

Uji permeasi terhadap kreatinin

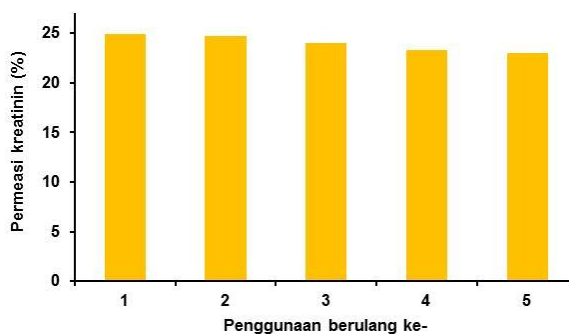
Studi kemampuan permeasi terhadap kreatinin dilakukan selama 6 jam pada setiap kali pemakaian. Hasil permeasi kreatinin pada pemakaian pertama terlihat pada Gambar ... Dari data terlihat bahwa permeasi oleh kitosan tertaut silang suksinat menaikkan kemampuan permeasi pada membran

kitosan. Sedangkan pemaduan dengan PVA-PEG tidak menaikkan kemampuan permeasi membran termodifikasi secara signifikan. Reaksi taut silang kitosan dengan asam suksinat menyebabkan gugus yang berperan sebagai sisi aktif membran bertambah, yaitu dengan masuknya gugus -COO- dari asam suksinat. Gugus -O- bebas dari -COO- menyebabkan kemampuan menarik kreatinin melalui terbentuknya ikatan hidrogen menjadi lebih besar [6]. Hal ini menyebabkan permeasi kreatinin meningkat dibandingkan dengan permeasi pada membran kitosan pure.



Gambar 5. Permeasi membran terhadap kreatinin

Uji penggunaan berulang (*reuse*) membran CS-Suk dilakukan selama lima kali pemakaian, terlihat pada Gambar 6. Dari uji *reuse* tersebut, didapatkan persentase permeasi kreatinin berturut-turut adalah 24,84, 24,62, 23,99, 23,21 dan 22,96%. Tidak terjadi penurunan persentase secara signifikan, dalam penggunaan secara berulang membran, hal ini mengindikasikan bahwa membran cukup baik dalam kestabilan sisi reaktifnya.



Gambar 6. Permeasi kreatinin pada penggunaan berulang (*reuse*) membran CS-Suk

4. Ucapan terimakasih

Penelitian ini didanai oleh Dirjen Pendidikan Tinggi melalui program penelitian Pascadoktor.

5. Kesimpulan

Modifikasi kitosan melalui taut silang dengan gugus -COOH dari asam suksinat dan paduan dengan polimer sintetik PVA-PEG mampu meningkatkan kekuatan fisika, kimia dan kemampuan permeasi terhadap kreatinin.

## 6. Daftar Pustaka

- [1] Retno Ariadi Lusiana, Dwi Siswanta, Mudasir Mudasir, Preparation of Citric Acid Crosslinked Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Blend Membranes for Creatinine Transport, *Indonesian Journal of Chemistry*, 16, 2, (2018) 144-150 <http://dx.doi.org/10.22146/ijc.21157>
- [2] Retno Ariadi Lusiana, Wahyu Putri Protoningtyas, Anugrah Ricky Wijaya, Dwi Siswanta, Mudasir, Sri Juari Santosa, Chitosan-Tripoly Phosphate (CS-TPP) Synthesis Through Cross-linking Process: the Effect of Concentration Towards Membrane Mechanical Characteristic and Urea Permeation, *Oriental Journal of Chemistry*, 33, 6, (2017) 2913-2919 <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/330626>
- [3] Ezequiel S. Costa-Júnior, Edel F. Barbosa-Stancioli, Alexandra A. P. Mansur, Wander L. Vasconcelos, Herman S. Mansur, Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications, *Carbohydrate Polymers*, 76, 3, (2009) 472-481 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.015>
- [4] Wilma F. van Straaten-Nijenhuis, Feike de Jong, David N. Reinhoudt, Randolph P. Thummel, Thomas W. Bell, Jia Liu, Urea transport through supported liquid membranes using synthetic carriers, *Journal of Membrane Science*, 82, 3, (1993) 277-283 [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(93\)85192-Y](https://doi.org/10.1016/0376-7388(93)85192-Y)
- [5] H. M. Fahmy, Moustafa M. G. Fouda, Crosslinking of alginic acid/chitosan matrices using polycarboxylic acids and their utilization for sodium diclofenac release, *Carbohydrate Polymers*, 73, 4, (2008) 606-611 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.12.024>
- [6] Fathur Al Baani, Retno Ariadi Lusiana, Muhammad Cholid Djunaidi, Pengaruh Agen Pencangkok Heparin terhadap Kemampuan Transpor Kreatinin dan Urea Membran Turunan Kitosan, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20, 2, (2017) 92-94 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.20.2.92-94>
- [7] Magdalena Gierszewska, Jadwiga Ostrowska-Czubenko, Chitosan-based membranes with different ionic crosslinking density for pharmaceutical and industrial applications, *Carbohydrate Polymers*, 153, (2016) 501-511 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.126>
- [8] Nastiti Nastiti, Parsaoran Siahaan, Pengaruh Berat Molekul Kitosan terhadap Efisiensi Enkapsulasi BSA (Bovine Serum Albumin) Menggunakan Agen Crosslink Na-TPP, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18, 3, (2015) 104-109
- [9] M. N. Hyder, P. Chen, Pervaporation dehydration of ethylene glycol with chitosan-poly(vinyl alcohol) blend membranes: Effect of CS-PVA blending ratios, *Journal of Membrane Science*, 340, 1, (2009) 171-180 <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.05.021>
- [10] Radhakumary C., Nair Prabha D., Reghunadhan Nair C. P., Mathew Suresh, Chitosan-graft-poly(vinyl acetate) for hemodialysis applications, *Journal of Applied Polymer Science*, 125, 3, (2012) 2022-2033 <http://dx.doi.org/10.1002/app.36261>
- [11] Marcel Mulder, J. Mulder, *Basic Principles of Membrane Technology*, Springer, 1996.
- [12] Suneeta Kumari, Sri Hari Kumar Annamareddy, Sahoo Abanti, Pradip Kumar Rath, Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells, *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, (2017) 1697-1705 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.119>
- [13] Lulu Li, Chong Cheng, Tao Xiang, Min Tang, Weifeng Zhao, Shudong Sun, Changsheng Zhao, Modification of polyethersulfone hemodialysis membrane by blending citric acid grafted polyurethane and its anticoagulant activity, *Journal of Membrane Science*, 405-406, (2012) 261-274 <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.03.015>
- [14] Peng-bo Huangfu, Ming Gong, Cunfu Zhang, Shan Yang, Jiang Zhao, Yong-kuan Gong, Cell outer membrane mimetic modification of a cross-linked chitosan surface to improve its hemocompatibility, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71, 2, (2009) 268-274 <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.02.014>
- [15] Agustiani Yudi Aryanti, Rum Hastuti, Khabibi Khabibi, Pengaruh Penambahan Polietilen Glikol (PEG) pada Selulosa dalam Serbuk Tongkol Jagung (Zea Mays) terhadap Adsorpsi Ion Logam Timbal (Pb<sup>2+</sup>), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 1, (2014) 1-5 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.17.1.1-5>
- [16] Nita Kusumawati, Septiana Tania, Pembuatan dan Uji Kemampuan Membran Kitosan sebagai Membran Ultrafiltrasi untuk Pemisahan Zat Warna Rhodamin B, *Molekul*, 7, 1, (2012) 43-52 <http://dx.doi.org/10.20884/1.jm.2012.7.1.105>



## Interaction Studies Between Cyclic Peptide ADT-C3 (Ac-CADTPC-NH<sub>2</sub>) with E-Cadherin Protein using the Molecular Docking Method Simulated on 120ns

Parsaoran Siahaan<sup>a\*</sup>, Vivitri Dewi Prasasty<sup>b</sup>, Atiatul Manna<sup>a</sup>, Dwi Hudiyantri<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang  
<sup>b</sup> Faculty of Biotechnology, Atma Jaya Catholic University of Indonesia

\* Corresponding author: [siahaan.parsaoran@live.undip.ac.id](mailto:siahaan.parsaoran@live.undip.ac.id); [siahaan\\_parsaoran@yahoo.com](mailto:siahaan_parsaoran@yahoo.com)

### Article Info

**Keywords:**  
 modulation  
 intercellular  
 junction, E-  
 Cadherin, ADTC3  
 peptide, Molecular  
 Dynamics,  
 Molecular Docking

### Abstract

The treatment of diseases that attack the brain is very difficult, because the delivery of drug molecules to the brain is often hindered by the blood-brain barrier (BBB). So that the drug delivery is not right on the target cell. Thus, was developed a method in modulation of intercellular junctions using ADTC3 cadherin peptide, Where the cadherin peptide is derived from the cadherin sequence itself. The method used in this research is molecular dynamics (DM) and molecular docking. In this study have been evaluated some peptide conformation in modulating intercellular junction. The results show that cyclic peptide ADT-C3 (Ac-CADTPC-NH<sub>2</sub>) was conducted DM for 120 ns (120000 ps), which has considerable activity in modulating intercellular junctions with binding energies of -33.10 kJ.mol<sup>-1</sup> and K<sub>i</sub> of 1.58 μM at the 79187 ps conformation. The binding site on residues Asp1, Trp2, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Met92 in the adhesion *arm-acceptor pocket* region.

### 1. Introduction

Diseases that attack the brain is a disease that is difficult to treat because the delivery of drug molecules to the brain is very difficult [1]. This is due to a biological barrier that is blood-brain barrier (BBB)[2]. Drug transport through the BBB can be achieved through the transcellular and paracellular pathways. Transport pathways that may be bypassed by macromolecular compounds are paracellular pathways. However, in this path there is a tight junction which is the most apical component and is generally regarded as a barrier to paracellular permeability [3]. Molecules that can pass through this pathway have a diameter size of less than 11 Å or with molecular weight of less than 500 Dalton [4]. Thus, the presence of BBB becomes a separate challenge in the process of drug delivery to target cells. One way to improve drug delivery systems is by increasing the tight junction porosity by inhibiting cadherin-cadherin interactions [5].

Cadherin is a transmembrane protein consisting of 5 extracellular domains (EC1-EC5), Where in the Ca<sup>2+</sup> ion attaches as a liaison between parts of E-Cadherin [6].

Cadherin is found in the adherens zonula [7]. Zonula adherens is one part of the junction between cells that are in zonula occludens (tight junction) and Desmosome. In the formation of junctions between cells, the cadherin molecule in one cell interacts with the cadherin molecule in another cell that is nearby to form an adherent zonula [8]. Duration of BBB opening is also most important factor, so that for the future research is very important to develop the drug delivery system in chitosan polymer matrix [9, 10].

Porosity in the paracellular pathway may be enhanced by cadherin peptides i.e peptides sequentially derived from the cadherin molecule itself (eg, HAV and ADT peptides). Thus, the cadherin peptide can occupy the binding site of the cadherin molecule and block the interaction between the cadherin molecules in adjacent cells and the tightness of the junction between cells can be adjusted. Although the HAV and ADT peptide experimentally increase the porosity of cadherin, the HAV and ADT peptide mechanism binding to cadherin have not been understood comprehensively in molecular level. So that, both experimentally NMR and

computationally docking method are interesting research.

Experimentally, Laksitorini [11] uses ADT6 cadherin peptide derivatives (eg, ADTC1, ADTC5, and ADTC6) to increase the delivery of drug molecules from the brain to the central nervous system and its results suggest that ADT6 cadherin peptide has the ability to inhibit inter-junction interactions of cells within the MDCK (Madin -Darby Canine Kidney) and the formation of cyclic peptides can enhance the ability of cadherin peptides to modulate inter-cell junctions [11]. Significant insight has already been gained by Alaofi *et.al.* [1] from the interplay of computationally docking method and experimentally NMR method in the study of supramolecular features such as interactions for probing the interaction between cHAVc3 peptide and E-cadherin domain EC1 and be able to explain that cHAVc3 peptides were able to increase the porosity of junction between cells [1]. Siahaan *et.al.* [12] have applied the docking method to probe the interaction between cyclic ADTC5 and E-cadherin, and the docked cyclic ADTC5 structure obtained by molecular dynamics simulations using the GROMACS with the trajectory generation was conducted with 120 ns (120,000 ps) running time [12]. ADTC3 peptides that have not been experimentally or computationally studied. So that, in this research will be studied the interaction between cyclic peptide ADTC3 with E-Cadherin domain EC1-EC2 by molecular docking. The study of ADTC3 begin by Manna *et.al.* [13] by molecular dynamics simulations conducted with 20 ns [13]. Molecular docking is a computational modeling performed to predict interactions and bonding sites [14]. Computational modeling can also explain the driving force that causes the interaction process between ADTC3 peptide and E-cadherin domain EC1-EC2, and with such interactions can increase the porosity of intercellular junction. In the molecular level the interaction between HAV or ADT with cadherin results in the hydrogen bonding between  $-NH_2$  and  $-C(=O)OH$  functional groups of amino acids. To obtain the precise binding energy, the smaller system can be applied such as Ac-AD-NH<sub>2</sub> and Ac-PV-NH<sub>2</sub> and calculated by ab initio method [15].

## 2. Material and Methods

### Protein and ADTC3 cyclic Peptide Preparation

In this study the model used is the crystal structure E-cadherin domain EC1-EC2 (code 2O72) as host and cyclic peptide ADTC3 as guest shown in Figure 1. The ADTC3 linear peptide is created using the PyMol program [16]. A cyclic peptide ADTC3 (cyclic (1.6) Ac-CADTPC-NH<sub>2</sub>) was formed by forming a disulfide bond on the thiol group of cysteine residues using the avogadro program.

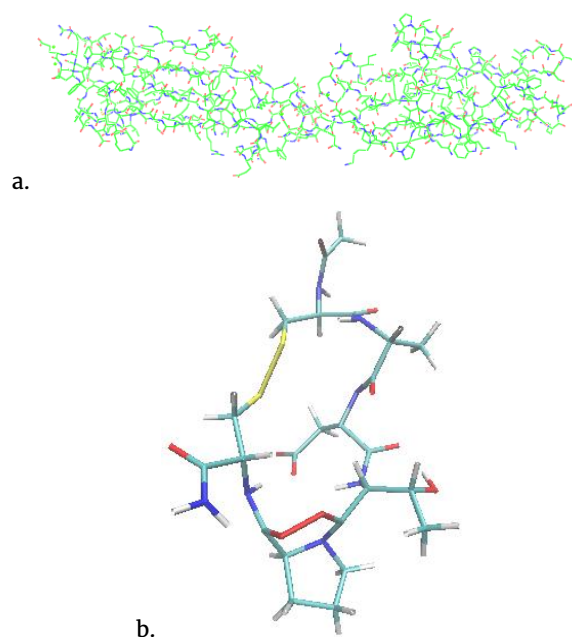


Figure 1. (a) The crystal structure of E-cadherin domain EC1-EC2. (B) The structure of the cyclic peptide ADTC3

### Molecular Dynamics Simulation (DM)

Molecular dynamics simulations were performed using the GROMACS program v.4.6.5 [17]. The DM simulation was performed to find out the dynamics and optimization of cyclic peptide ADTC3 to obtain the lowest conformation and energy in the water solvent and added ion. In preparation of the system is done giving force field charmm27 and added tip3p water solvent on a box-shaped container measuring 1 nm [18]. In addition, on the system added 4Na<sup>+</sup> and 4Cl<sup>-</sup> ions to obtain physiological concentration of 0.15 M. Minimization energy of system is done to relax the excess force on the system. Molecular dynamics (DM) is carried out for 120 ns with the peptide at restrain position. Then the system equilibrium between the peptide conformation with the solvent / ion becomes the expected representation at a temperature of 300K and a pressure of 1 atm by DM for 100 ps. After the equilibrium system, the income of trajectory with parameters is changed by doing DM 120 ns (120000 ps) at constant temperature 300 K and constant volume to obtain trajectory data. The resulting trajectory then analyzed the C $\alpha$ 's root-mean-square-deviation against the initial structure and total energy analysis during DM by taking 20 conformational structures having the lowest energy with time variation for 120 ns.

### Molecular Docking

Molecular docking is done using the AutoDock v.4.2 program [19]. Autogrid is a rapidly binding pre-evaluation of energy between the atomic types of cyclic ADTC3 ligands (C, HD, N, OA, SA), electrostatic, and desolved with E-cadherin protein. Evaluation using a grid box with a grid spacing of 0.375 Å at the protein bond site and the evaluation of this study was conducted only on the EC1 domain of E-cadherin. Furthermore, the

Autodock process is docking process starting from E-cadherin as rigid molecule and selecting cyclic peptide ADTC3 as ligand. Conformation search using Lamarckian-Genetic algorithm with binding energy determination using semi-empirical free force energy field approach [20]. The number of algorithms executed and the number of evaluation processes each set at 150 and 10,000,000.

### 3. Results and Discussion

#### Simulation of Molecular Dynamics

The simulated results of cyclic DM peptide ADTC3 using Gromacs can be shown in Figure 2. In the simulation of cyclic peptide DM ADTC3, RMSD analysis was performed to determine the movement of soluble peptides in water and ions by comparing peptide chains in native structures at C $\alpha$  which have residual amount (N) equal to alternative structure for 120 ns. Based on RMSD analysis on DM simulation 20 ns and 120 ns respectively obtained distance fluctuation of 1.13– 2.47 Å and 1.07– 2.54 Å. The movement of peptide molecules is said to be stable if the RMSD does not exceed 3 Å.

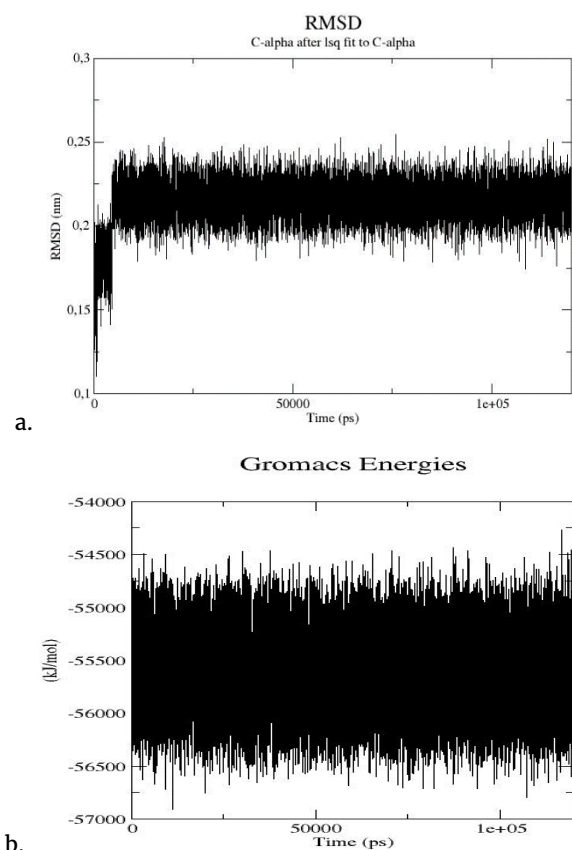


Figure 2. (a) Graph of RMSD C $\alpha$ . (B) Total energy graph

From the analysis of RMSD shown in Figure 2. shows he movement of the cyclic peptide molecule ADTC3 tends to be stable and convergent. In addition, it can be proved by the change of distance between S<sub>14</sub> ... S<sub>78</sub> at the start and end terminus of the amino acid cysteine which tend to be stable is shown in Table 1. Furthermore, total energy analysis is conducted to find the most stable peptide structure in accordance with actual approximate conditions. Conformation of cyclic

peptide conformation ADTC3 has folding / unfolding, peptide having folding structure is more stable because it has the lowest energy [21]. In this analysis, the selection of 20 conformations at the lowest energy to perform molecular docking can be seen in table 2.

Table 1. The movement of cyclic peptide ADTC3 during DM 120 ns

Time (ns)	Total Energy (kJ/mol)	Rs <sub>14...S75</sub> (Å)
0	-55423.32	2.02893
1	-55619.96	2.02931
5	-56395.01	2.02927
10	-55950.31	2.02909
15	-55482.96	2.02888
20	-56000.62	2.02887
25	-55003.70	2.02869
30	-55680.39	2.02958
35	-55385.38	2.02890
40	-56267.23	2.02891
45	-55475.67	2.02888
50	-55417.34	2.02857
55	-55484.88	2.02887
60	-55800.77	2.02927
65	-55210.07	2.02916
70	-55967.90	2.02959
75	-55183.36	2.02882
80	-55691.77	2.02919
85	-55542.82	2.02864
90	-55521.95	2.02890
95	-55386.18	2.02848
100	-55681.81	2.02892
105	-55624.86	2.02826
110	-55766.13	2.02911
115	-55654.79	2.02911
120	-56000.62	2.02832

Table 2. Twenty B code conformations at the lowest energy

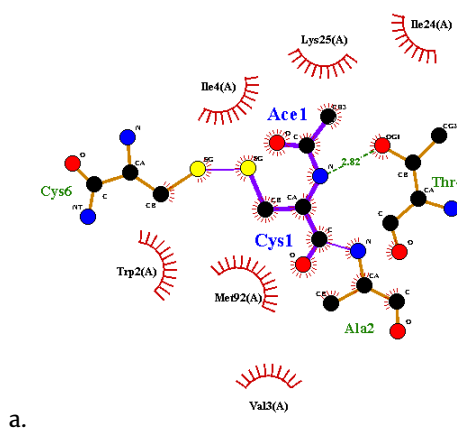
Code	Lowest Total Energy (kJ/mol)	Time (ps)	RMSD (Å)
B1	-56910.86	11139	2.12
B2	-56797.31	107325	2.02
B3	-56756.62	20001	2.17
B4	-56720.14	9270	2.24
B5	-56714.69	93956	2.17
B6	-56713.12	82003	2.10
B7	-56712.86	79187	2.04
B8	-56704.23	73586	2.15
B9	-56702.36	107321	2.15
B10	-56685.10	59008	2.12
B11	-56681.76	109365	2.32
B12	-56677.22	72273	2.17
B13	-56673.41	26439	2.13
B14	-56671.74	6155	2.12
B15	-56671.06	98475	2.18
B16	-56668.51	87228	2.24
B17	-56657.55	113125	2.31
B18	-56655.01	33979	2.26
B19	-56640.10	69541	2.29
B20	-56637.58	23380	2.18

**Molecular Docking**

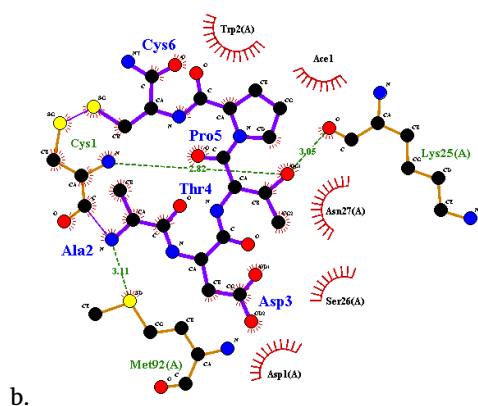
Molecular docking is one of the most commonly used methods of determining structure-based drug design (SBDD) because of its ability to predict with substantial accuracy [22]. Molecular docking is performed to determine the conformation and binding energy between cyclic peptides ADTC3 with E-cadherin domain EC1-EC1. The cyclic peptide ADTC3 has a gasteiger load of 28 non-polar hydrogens, 9 rotatable bonds, and degrees of torque free as much as 7 from 32. Docking stage there are 2 that is Autogrid and Autodock. In the Autogrid stage gridbox positioning is done blind docking with gridbox size 62x62x62, this method is done because not yet known active side on E-cadherin domain EC1 with cyclic peptide ADTC3. And the AutoDock stage uses Genetic Algorithm or GA parameters of 150 and population of 150 and number of eval of 10.000.000. From the result of blind docking done on cyclic peptide ADTC3 by DM 120 ns (code B) to E-cadherin domain EC1 (figure 3), In code B1-B20 which has the lowest binding energy in the seventh conformation (code B7) with energy of -29.79 kJ/mol and amplified by the presence of hydrogen bonds between residues Trp2 ... Asp3 and Trp2 ... Ala2 type hydrogen bonds are O ... NH and O ... NH with respective spacing of 2.115 and 1.893 Å.

The residual bond site in code B is Asp1, Trp2, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Met92 with the amount of residue 7 in the adhesion arm-acceptor pocket region. In the Parisini study (2007) showed that residues that act in the adhesion arm region are D1, W2, E89, D90, M92 and W2, V3, P5Q23, K25 [23].

Based on the results of docking analysis there are several clusters for each structure, the election starts from the structure with the minimum binding energy. If two or more structures are produced with the minimum energy, then selected structure with the most frequencies. And the results will be validated docking.



a.

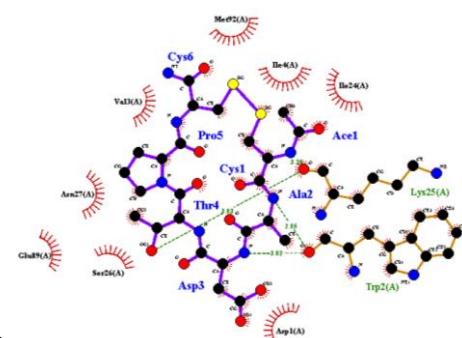


b.

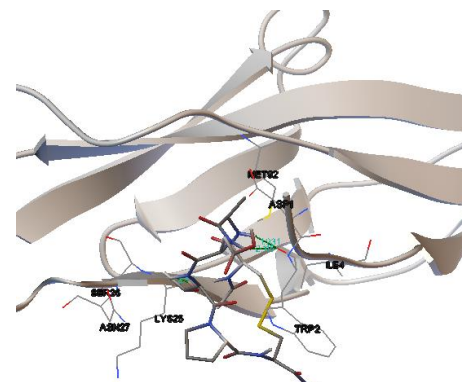
Figure 3. Molecular docking structure of E-cadherin domain EC1-EC2 with cyclic peptide ADTC3 using ligplus rogram.

**Docking validation is done by Re-docking**

After blind docking, we can know the binding site between the cyclic peptides ADTC3 premises E-cadherin domain EC1-EC2. Then re-docked to validate the docking result and RMSD should be <2 Å [24]. Re-docking is done on protein bonding sites with the same parameters. Each conformation has a different protein bonding site, so it has different gridbox sizes but the same grid spacing is 0.375 Å. Based on the re-docking result, the lowest binding energy obtained in the same conformation as the docking result (figure 4) with binding energy is -33.10 kJ / mol, Site bonding on residues Asp1, Trp2, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Met92 (code B). The following site data interaction against E-cadherin domain EC1 can be shown in table 3. For data docking results can be shown in table 4.



a.



b.

Figure 4. Molecular docking structure of E-cadherin domain EC1-EC2 with cyclic peptide ADTC3 using (a) ligplus and (b) Autodock

Table 3. Site interaction code B with E-Cadherin domain EC1-EC2

Code	Hydrogen bond	Center Gridbox			Binding site Residues of ADTC3 Cyclic Peptide with EC1 domain	RMSD (Å)
		X	Y	Z		
B1	1	45.866	8.692	57.358	Trp2, Val3, Ile4, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Ser78, Glu89, Met92	0.42
B2	2	47.668	8.015	57.447	Asp1, Trp2, Ile4, Lys25, Asn27, Met92	0.54
B3	1	46.529	9.821	57.358	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	2.31
B4	-	47.074	6.598	57.441	Trp2, Val3, Ile4, Gln23, Ile24, Lys25, Met92	1.13
B5	2	43.836	4.322	56.991	Trp2, Val3, Ile4, Val22, Gln23, Ile24, Lys25	2.84
B6	1	45.818	8.987	57.457	Trp2, Val3, Ile4, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Ser78, Glu89, Met92	0.34
B7	3	47.196	9.015	57.653	Asp1, Trp2, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Met92	0.28
B8	2	47.196	10.487	57.44	Asp1, Trp2, Ile4, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Met92	0.49
B9	2	47.962	6.765	57.441	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Asn27	0.65
B10	-	41.668	9.626	57.414	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	2.78
B11	1	44.418	8.015	57.441	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	0.53
B12	1	46.585	9.848	57.441	Trp2, Val3, Ile4, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Ser78, Glu89, Met92	0.38
B13	-	46.446	9.626	57.375	Trp2, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Ser78, Glu89, Met92	0.54
B14	1	46.457	9.126	57.208	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	1.08
B15	2	46.64	7.065	57.525	Trp2, Val3, Ile4, Val22, Gln23, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	0.86
B16	-	46.518	9.459	57.441	Trp2, Val3, Ile4, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	0.35
B17	1	48.418	7.015	57.467	Trp2, Val3, Ile4, Gln23, Lys25, Asn27	2.64
B18	2	48.418	7.015	57.467	Trp2, Val3, Ile4, Ile24, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	3.12
B19	1	44.64	9.487	57.871	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	0.48
B20	1	44.529	9.876	57.832	Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Glu89, Met92	0.36

Based on table 3 and table 4 shows the existence of driving force which causes interaction between cyclic peptide ADTC3 and E-cadherin domain EC1 that is binding energy and hydrogen bond [19]. The best interaction occurs in conformations that have the least energy of code B7. Binding energy that is increasingly minimum or more negatively influenced by the effect of cooperativity. Cooperativity effect is influenced by non-covalent interaction [25]. Cooperative interaction consists of three or more molecules and is an important component of the interaction between molecules that is the presence of hydrogen bonds [26]. The more interaction that is formed in the formation of molecular recognition between the guest and the host complex, the more stable the molecule becomes and the negative energy is called negative cooperativity. In the code docking results B7 has the highest number of hydrogen bonds than any other conformation, with the three hydrogen bonds increasingly complex interactions. In general, if viewed from the relationship  $\Delta G$  and  $K_i$  the minimum binding energy the ability of ADTC3 in inhibiting EC1 stronger, so the porosity of junctions between cells can be adjusted.

Table 4. Energy binding and  $K_i$  code B results Re-docking

Code	pose	Lowest Binding Energy (kJ/mol)	$K_i$
B1	138	-27.99	12.41 $\mu M$
B2	5	-29.16	7.77 $\mu M$
B3	34	-27.11	17.84 $\mu M$
B4	97	-20.71	236.96 $\mu M$
B5	48	-27.91	12.86 $\mu M$
B6	78	-28.58	9.84 $\mu M$
B7	89	-33.10	1.58 $\mu M$
B8	19	-29.79	6.02 $\mu M$
B9	69	-24.43	52.12 $\mu M$
B10	126	-28.12	11.77 $\mu M$
B11	31	-26.94	19.14 $\mu M$
B12	55	-28.66	9.54 $\mu M$
B13	60	-27.57	14.7 $\mu M$
B14	6	-28.07	12.02 $\mu M$
B15	40	-24.06	60.82 $\mu M$
B16	132	-26.53	22.62 $\mu M$
B17	32	-21.67	159.89 $\mu M$
B18	74	-25.06	40.92 $\mu M$
B19	82	-26.69	21.19 $\mu M$
B20	6	-27.82	13.32 $\mu M$

#### 4. Conclusion

The results show that the lowest energy have the binding energy of -33.10 kJ/mol (conformation B7). The binding site are on residues Asp1, Trp2, Ile4, Lys25, Ser26, Asn27, Met92. This binding energy differ with simulation 20 ns which is -31.55 kJ/mol with the binding site are on residues Asp1, Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Met92. Based on these results, the ADTC3 is also expected be able to modulate the intercellular junction and the tight junction porosity can be adjusted.

#### 5. Acknowledgements

Thank you to Prof. Teruna J. Siahaan, Ph.D. (Pharmacy Department of University of Kansas, US) for input and discussion of cells and drug delivery systems. Thank you for Professor. Krzysztof Kuczera, Ph.D. (Chemistry Department, University of Kansas, US) for his discussion of computational modeling.

#### 6. Reference

- [1] Ahmed Alaofi, Elinaz Farokhi, Vivitri D. Prasasty, Asokan Anbanandam, Krzysztof Kuczera and Teruna J. Siahaan, Probing the interaction between cHAVc3 peptide and the EC1 domain of E-cadherin using NMR and molecular dynamics simulations, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35, 1, (2017) 92-104 <http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2015.1133321>
- [2] Anna Lisa Iorio, Martina da Ros, Ornella Fantappiè, Maurizio Lucchesi, Ludovica Facchini, Alessia Stival, Sabrina Becciani, Milena Guidi, Claudio



- Favre, Maurizio de Martino, Lorenzo Genitori and Iacopo Sardi, Blood-Brain Barrier and Breast Cancer Resistance Protein: A Limit to the Therapy of CNS Tumors and Neurodegenerative Diseases, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 16, 7, (2016) 810-815  
<http://dx.doi.org/10.2174/1871520616666151120121928>
- [3] M. S. Balda and K. Matter, Tight junctions, *Journal of Cell Science*, 111, 5, (1998) 541-547
- [4] Reinhard Gabathuler, Approaches to transport therapeutic drugs across the blood-brain barrier to treat brain diseases, *Neurobiology of Disease*, 37, 1, (2010) 48-57  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.028>
- [5] Marlyn D. Laksitorini, Paul K. Kiptoo, Ngoc H. On, James A. Thliveris, Donald W. Miller and Teruna J. Siahaan, Modulation of Intercellular Junctions by Cyclic-ADT Peptides as a Method to Reversibly Increase Blood-Brain Barrier Permeability, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104, 3, (2015) 1065-1075 <http://dx.doi.org/10.1002/jps.24309>
- [6] Shinji Hirano and Masatoshi Takeichi, Cadherins in Brain Morphogenesis and Wiring, *Physiological Reviews*, 92, 2, (2012) 597-634  
<http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00014.2011>
- [7] Natalie K. Lee, Ka Wai Fok, Amanda White, Nicole H. Wilson, Conor J. O'Leary, Hayley L. Cox, Magdalene Michael, Alpha S. Yap and Helen M. Cooper, Neogenin recruitment of the WAVE regulatory complex maintains adherens junction stability and tension, *Nature Communications*, 7, (2016) 11082  
<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms11082>
- [8] Ernawati Sinaga, Seetharama D. S. Jois, Mike Avery, Irwan Makagiansar, Usman S. F. Tambunan and Teruna J. Siahaan, Modulasi Junction Antar Sel Menggunakan Peptida Kadherin Upaya Meningkatkan Penghantaran Obat, *Makara Journal of Science*, 8, 1, (2004) 25-34  
<https://doi.org/10.7454/mss.v8i1.394>
- [9] Nastiti Nastiti and Parsaoran Siahaan, Pengaruh Berat Molekul Kitosan terhadap Efisiensi Enkapsulasi BSA (Bovine Serum Albumin) Menggunakan Agen Crosslink Na-TPP, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18, 3, (2015) 104-109
- [10] Bani Amanullah Prasajo and Parsaoran Siahaan, Pengaruh Berat Molekul Kitosan terhadap Efisiensi Enkapsulasi BSA (Bovine Serum Albumin) Menggunakan Agen Crosslink Asam Sitrat, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18, 2, (2015) 62-66
- [11] Marlyn D. Laksitorini, Design of Cyclic-ADT Peptides to Improve Drug Delivery to the Brain via Inhibition of E-Cadherin Interactions at the Adherens Junction, *Pharmaceutical Chemistry*, University of Kansas, Kansas
- [12] Parsaoran Siahaan, Vivitri Dewi Prasasty, Bungaran David Simanjuntak, Suci Hildayani and Khairul Anam, Structural Stability of ADTC5 Peptide: Conformational Insights into Dynamics and Its Binding Mode, *Journal of Tropical Life Science*, 7, 2, (2017) 138-145  
<http://dx.doi.org/10.11594/jtlls.07.02.09>
- [13] Atiatul Manna, Marlyn Dian Laksitorini, Dwi Hudyanti and Parsaoran Siahaan, Molecular Docking of Interaction between E-Cadherin Protein and Conformational Structure of Cyclic Peptide ADTC3 (Ac-CADTPC-NH<sub>2</sub>) Simulated on 20 ns, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20, 1, (2017) 30-36  
<http://dx.doi.org/10.14710/jksa.20.1.30-36>
- [14] Shweta Agarwal and Ranjana Mehrotra, An overview of Molecular Docking, *JSM Chemistry*, 4, 2, (2016) 1024-1027
- [15] Imelda F. Saragih and Parsaoran Siahaan, Kitosan sebagai Bahan Dasar Drug Delivery: Studi Interaksi antara Segmen Dimer Kitosan dengan Dipeptida Ac-AD-NH<sub>2</sub> dan Ac-PV-NH<sub>2</sub> secara Komputasi AB-Initio, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 2, (2014) 58-64
- [16] R. Padmini, Razia Muthusamy, V. Roopavahini and S. Sai Aruna, Molecular Docking Studies of Allylsulfur Compounds from *Allium sativum* against EGFR Receptor, *The International Journal of Current Research and Academic Review*, special issue, 3, (2016) 207-218
- [17] Miaoer Yu, Computational Modeling of Protein Dynamics with GROMACS and Java, *Computer Science*, San José State University, California
- [18] Patel Sandeep, Alexander D. Mackerell Jr. and Charles L. Brooks, CHARMM fluctuating charge force field for proteins: II Protein/solvent properties from molecular dynamics simulations using a nonadditive electrostatic model, *Journal of Computational Chemistry*, 25, 12, (2004) 1504-1514  
<http://dx.doi.org/10.1002/jcc.20077>
- [19] Lokesh Ravi and Kannabiran Krishnan, A Handbook on Protein-Ligand Docking Tool: AutoDock 4, *Innovare Journal of Medical Sciences*, 4, 3, (2016) 28-33
- [20] Morris Garrett M., Goodsell David S., Halliday Robert S., Huey Ruth, Hart William E., Belew Richard K. and Olson Arthur J., Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function, *Journal of Computational Chemistry*, 19, 14, (1998) 1639-1662  
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14%3C1639::AID-IJCC10%3E3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14%3C1639::AID-IJCC10%3E3.0.CO;2-B)
- [21] Ken A. Dill, Dominant forces in protein folding, *Biochemistry*, 29, 31, (1990) 7133-7155  
<http://dx.doi.org/10.1021/bi00483a001>
- [22] Leonardo Ferreira, Ricardo dos Santos, Glaucius Oliva and Adriano Andricopulo, Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies, *Molecules*, 20, 7, (2015) 13384  
<https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- [23] Emilio Parisini, Jonathan M. G. Higgins, Jin-huan Liu, Michael B. Brenner and Jia-huai Wang, The Crystal Structure of Human E-cadherin Domains 1 and 2, and Comparison with other Cadherins in the Context of Adhesion Mechanism, *Journal of Molecular Biology*, 373, 2, (2007) 401-411  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.08.011>
- [24] P. Archana, N. Sathishkumar and N. Bharathi, In Silico Docking Analysis Of Curcumin - An Inhibitor For Obesity, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1, 4, (2010) 224-235
- [25] Xavier Lucas, Antonio Bauza, Antonio Frontera and David Quinero, A thorough anion- $\pi$  interaction study in biomolecules: on the

importance of cooperativity effects, *Chemical Science*, 7, 2, (2016) 1038-1050  
<http://dx.doi.org/10.1039/C5SC01386K>

- [26]Asit K. Chandra and Th Zeegers-Huyskens, Theoretical Investigation of the Cooperativity in  $\text{CH}_3\text{CHO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{FCHO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , and  $\text{CH}_3\text{CFO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Systems, *Journal of Atomic, Molecular, and Optical Physics*, 2012, (2012) 1-8  
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/754879>



## Synthesis of Nano Chitosan as Carrier Material of Cinnamon's Active Component

Ngadiwiyana<sup>a\*</sup>, Enny Fachriyah<sup>a</sup>, Purbowatiningrum Ria Sarjono<sup>a</sup>, Nor Basid Adiwibawa Prasetya<sup>a</sup>, Ismiyanto<sup>a</sup>, Agus Subagio<sup>b</sup>

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

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

### Article Info

**Keywords:**  
 Nanochitosan,  
 cinnamon extract,  
 encapsulation

### Abstract

Development and innovation to improve the efficacy of active ingredients of a plant can be done by using nanoparticle encapsulation of chitosan, which has dual function of protecting natural extracts degradation and delivering natural extracts to the target site. Chitosan is a natural polymer that is nontoxic, mucoadhesive, biodegradable, and biocompatible. This polymer also has a low level of immunogenicity and can be prepared into nanoparticles in mild conditions that make it suitable for natural extracts delivery systems. This paper reported synthesis of chitosan nanoparticles for cinnamon's natural extract delivery. Chitosan synthesis was carried out by chitin deacetylation isolated from shrimp shells. Chitosan characterization was done by measuring deacetylation degree by FTIR. Chitosan nanoparticles were prepared by ionic gelation method using tripolyphosphate as crosslinker. Morphology and particle size of nano chitosan were characterized using a scanning electron microscope (SEM) and a transmission electron microscope (TEM). The result found that the yield of deproteinated chitin was 62.60%. Further process of demineralization resulted a yield of 52.60%, then depigmentation with a yield of 75.56%, and deacetylation with a yield of 79.02%. FTIR analysis showed that deacetylation degree of chitin into chitosan was found of 87.78%. Characterization by SEM found that nano chitosan has a particle size of 87 nm. While TEM images showed that the nano chitosan has a uniform shape and a lower physical aggregation.

### 1. Introduction

The applications of natural extracts still showed less optimal results due to the lack of efficiency of absorption by the body. It is because of the relatively large particle size, low solubility and the possibility of degradation/damage during the absorption process. Those facts lead to the need to conduct modification of natural extracts to optimize their usefulness. This research will attempt to combine chitosan with natural extracts by encapsulation of this compound within nanoparticles which has function to protect degradation and facilitate the delivery of natural extracts to the target site [1]. In this study, chitosan play a role as the nanoparticles which developed as delivery systems of natural extracts. This preference is based on the abundance source of chitosan from shrimp shells [2-5]. Chitosan is a natural polymer which has characteristics

such as nontoxic, mucoadhesive, biodegradable, biocompatible, a low level of immunogenicity and can be prepared into nanoparticles in mild conditions. Therefore, it is suitable for delivery systems of natural extracts [6, 7]. Another advantage of using nanochitosan is this compound can serve as antihypercholesterol so that the combination of nano chitosan-natural extract is expected to have a synergistic effect that is reinforcing mutually.

The synthesis of chitosan can be carried out by deacetylation of chitin isolated from shrimp shells. Chitosan characterization can be performed by measuring the degree of deacetylation by using FTIR [8]. Chitosan nano particles can be prepared by ionic gelation method using tripolyphosphate as crosslinker. Obtaining nano-chitosan with dispersity level and good stability can be influenced by the preparation conditions

such as concentration of chitosan and tripolyphosphate and the volume ratio of chitosan-tripolyphosphate [9, 10].

The encapsulation process of natural extracts in nanoparticles of chitosan was conducted by inclusion method. Nanoparticles of chitosan-natural extracts being tested to check their physical, chemical, and biological properties including the morphology, particle size, zeta potential, and stability in vitro release profiles cinnamon extract. The morphology of natural extracts nanoparticle is characterized by a scanning electron microscope (SEM) to observe the surface structure of nanoparticles. The levels of natural extracts in the supernatant is then analyzed using Fourier Transformed Infrared (FTIR) to determine the complexation reaction between the extract and chitosan nanoparticle[7].

## 2. Methods

### Equipments

Equipments used were laboratory glasswares, furnace, oven, hot plate, magnetic stirrer, FTIR, Scanning Electron Microscope (SEM) and a transmission electron microscope (TEM).

### Materials

The materials used in this study were shrimp shells, acetic acid, ammonia, HCl, NaOH, distilled water, and TPP (tripolyphosphate).

### Chitin isolation from shrimp shells

Isolation of chitin from shrimp shells was carried out using NaOH solution. At first, shrimp shells was grinded to obtain a size of 120 mesh. Shrimp shell powder was added into 3.5% NaOH solution, then the mixture was heated under stirred condition at 65 °C for 2 hours. The mixture was filtered and residue was washed with distilled water until neutral. The residue was then suspended into HCl 1 N and the mixture was heated under stirred at 65 °C for 2 hours. The mixture was filtered and the residue was washed with distilled water until neutral. The residue was then soaked in 250 mL of 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 24 hours and it was repeated. The mixture was filtered and the residue was washed with distilled water and it was then dried at 80 °C in oven for 8 hours to obtain dried chitin. The chitin powder was characterized using FTIR spectrophotometer with a baseline method to determine Degrees of Deacetylation (DD).

### Chitosan synthesis

Synthesis of Chitosan was done by deacetylating chitin. Chitin powder was soaked in 600 mL of 50% NaOH (1:20 w/v) and it was then stirred and heated to a temperature of 120°C for 4 hours. Residue and filtrate is separated by filtration, and then the residue was neutralized by washing with distilled water until neutral pH. The residue was dried in an oven at 80°C for 24 hours. Chitosan powder was characterized using FTIR spectrophotometer to determine Degrees of Deacetylation (DD).

### Nanochitosan modification

Modification of nanochitosan was carried out by ionic gelation method. At first, chitosan was dissolved in acetic acid solution in various concentrations. Afterwards, it was stirred until homogeneous. Then a solution of sodium tripolyphosphate was added slowly. The sample was then observed visually to obtain solution, aggregate and suspension. Opalesen suspension zone was then studied as a condition of making chitosan nanoparticles. In this research, influence of condition and treatment of reaction to morphological structure and size of nanoparticles of chitosan was also studied.

## 3. Results and Discussion

### Isolation Chitosan from Shrimp Shells

Isolation of chitosan from shrimp shells was obtained with the results shown in Table 1.

Table 1. The yield of each step in chitosan isolation

Processes	Sample mass (gram)	Result mass (gram)	Yield (%)
Deproteination	25.00	15.65	62.60
Demineralization	5.00	2.63	52.60
Depigmentation	2.50	1.89	75.56
Deacetylation	1.50	1.19	79.06

Chitin isolation and chitosan synthesis from shrimp shells were carried out through five stages, namely the preparatory stage, deproteination, demineralization, depigmentation, and deacetylation.

#### 1. Preparatory stage

The preparation begins with shrimp shells washing using a warm water to remove soluble organic compound, proteins, and other impurities in shrimp shells. The shells were boiled in water for 1 hour and afterwards it was dried under the sunlight. The dried shrimp shells were ground and sieved at 60 mesh to obtain a powder shells.

#### 2. Deproteinization

Deproteinization aims to remove residual protein and fat contained in shrimp shells. Protein is one of the large constituents found in shrimp shells of about 20-24% of the dry material [11]. Protein binds to chitin covalently or physically. Therefore, it is necessary to break the covalent bonds between proteins with chitin, which is called as deproteinated.

Protein was removed by reacting 60 mesh of shrimp powder with 4% NaOH at 80 °C for 1 hour. Deproteinization can be done under basic conditions followed by heating process for a certain time. NaOH is widely used because it is not only effectively work, but also relatively inexpensive and readily available. Giving bases are meant to denature the protein into sodium proteinic which soluble in NaOH solution.

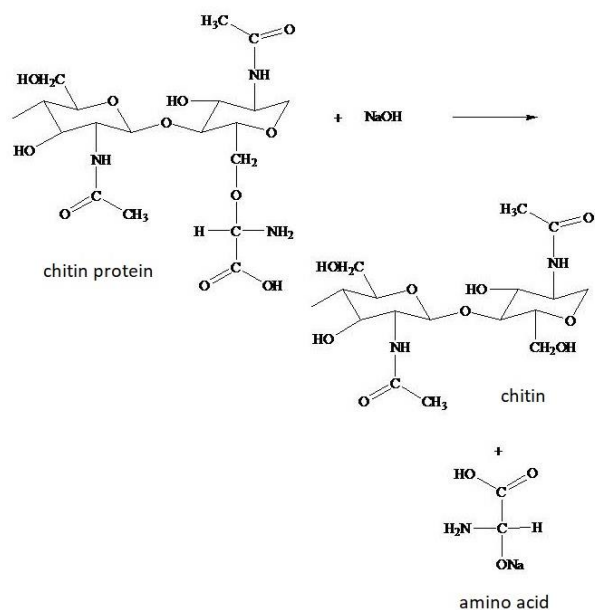


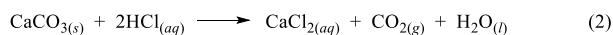
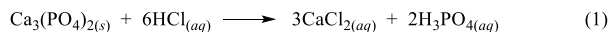
Figure 1. Deproteinization reaction

Deproteinization process was not conducted at a high temperature and a long period to avoid damaging of acetyl groups. Filtering and washing with distilled water until a neutral pH was done to remove sodium hydroxide that may still remain in the residue. Then drying was carried out to obtain a dry brown powder. The yield obtained from deproteinization stage is about 62.60%.

### 3. Demineralization

Demineralization is a process to remove minerals contained in the shrimp shells, especially calcium carbonate. Demineralization is generally carried out using HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH and HCOOH. Among these acids, a dilute hydrochloric acid is most commonly used [12].

Demineralization was conducted by reacting 5 gram of the residue obtained from the deproteinated process with 75 mL of 1 N hydrochloric acid under stirring for 1 hour at 80°C. Hydrochloric acid plays a role in dissolving the calcium salts. Mineral dissolution reactions is shown in equation (1) and (2) as follows:



Carbon dioxide generated can be seen from the scum formed on the process of demineralization. It showed that there has been a mineral separation process on the shrimp waste. After solution became homogen, then filtering and washing were done using distilled water until obtaining a neutral pH. This washing process aims to avoid mineral re-attached to chitin surface and to dissolve molecules into water. Then, the residue was dried for 24 hours. The yield obtained from the demineralization phase is 52.60%.

### 4. Depigmentation/Decolorization

Decolorization is a stage of removal of pigment (dye) such as astaxanthine in shrimp waste. Pigment

contained in chitin does not bound to the mineral or protein, resulting in a brownish chitin. Decolorization aims to provide a better appearance to chitin obtained [12]. In this step, the demineralized product was reacted with bleaching agents such as sodium hypochlorite (NaOCl) or peroxide. The demineralized chitin was reacted with NaOCl under stirring for 1 hour to obtain a white-colored chitin. Then, the solution was neutralized to obtain a white mixture, which indicates that the pigment has been separated from chitin. The drying process was carried out in an oven at a 60°C for 1 hour to obtain a white clean chitin of 1.62 gram with yield of 75.56%.

### 5. Deacetylation

Chitosan is obtained by performing chitin deacetylation process. Deacetylation is a process of converting the acetyl group (-NHCOCH<sub>3</sub>) in chitin, through addition of high concentrations of NaOH into an amine group (-NH<sub>2</sub>) to be a chitosan. Chitin deacetylation reaction is based on an amide hydrolysis reaction of α-(1-4)-2-acetamide-2-deoxy-D-glucose by a base. Chitin acts as an amide and NaOH as a base. At first, it starts by an addition reaction, wherein hydroxyl group (-OH) entering into NHCOCH<sub>3</sub> followed by CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> group elimination to produce an amide product, which called chitosan. Hydrolysis with a strong base is explained as follows:

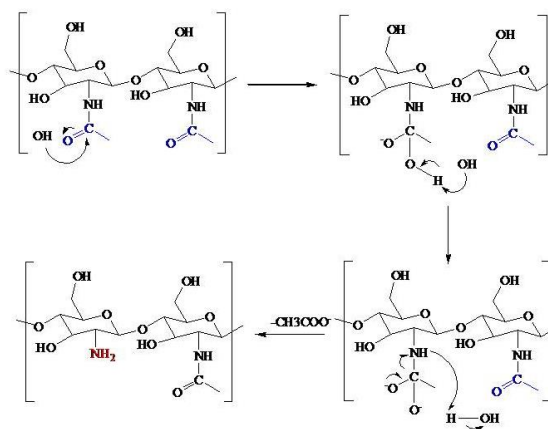


Figure 2. Deacetylation reaction

Chitin deacetylation process was done using 4% NaOH under stirring for 1 hour at 80°C. This condition is needed because chitin has thickcell structures and has a strong intramolecular hydrogen bond between hydrogen of amine group and oxygen of carbonyl group. Deacetylation using hot strong bases will lose acetyl group in chitin through break the bond between carbon of acetyl group and nitrogen of amine group. However, if the temperature applied is too high and carried out in a too long reaction time, it will result in depolymerization of chitosan, which obtain a smaller molecular weight chitosan [13]. From the experimental results obtained chitosan of 1.19 grams with a yield of 79.06%.

**Characterization**

Analysis by FTIR spectra provided information about the functional groups of the products. The spectra showed that the compound has a functional group as expected compound. FTIR spectra of chitin showed some vibration patterns, which are in 3490 cm<sup>-1</sup> from NH, 3310 cm<sup>-1</sup> from -OH, 1650 cm<sup>-1</sup> from stretching vibration of C=O, and 1560 cm<sup>-1</sup> from stretching vibration of NH. The stretching vibration of NH is a characteristic for chitin due to a NH group in -NH-CO- (acetylated amine group). Vibration of CH<sub>3</sub> from chitin at 1310 cm<sup>-1</sup> coincides with C-N amide vibration at 1400 cm<sup>-1</sup>. Vibration of amine group of chitin in the 3490 cm<sup>-1</sup> is coincided with OH vibration because hydrogen bond in amine is weak and less polar. It makes N-H bond vibration becomes less intense than OH. Other vibration at 2970 cm<sup>-1</sup> is a stretching from aliphatic C-H. This absorption is weak because chitin structure is dominated by R<sub>3</sub>C-H (methyn) which has a weak absorption. The presence of an absorption band at 1010-1150 cm<sup>-1</sup> showed a vibration of C-O. Absorption pattern appears to indicate that the residue is a chitin as expected.

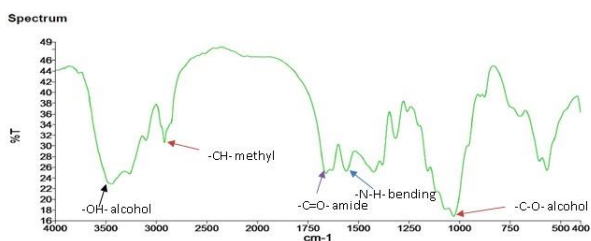


Figure 3. FTIR Spectra of Chitosan

FTIR spectra of chitosan residues showed a broad absorption band at 3490 cm<sup>-1</sup> indicating hydrogen bond of OH stretching vibration. Absorption band at 2950 cm<sup>-1</sup> and 1050 cm<sup>-1</sup> are responsible for stretching vibration of C-H methylene group and C-O group, respectively. Chitosan absorption band are similar to that of chitin. The differences are occur after deacetylation step, in which there are changes in the absorption spectrum at 1690 cm<sup>-1</sup> from stretching of C=O. The spectra (Fig 3) showed a shift of C=O absorption from 1650 cm<sup>-1</sup> to 1690 cm<sup>-1</sup> and a decrease of N-H absorption band in CONH group at 1560 cm<sup>-1</sup> in chitosan. It also showed a new appearance of a weak absorption at 1555 cm<sup>-1</sup>.

The changing of FTIR spectra of chitin and chitosan can be ascertained that deacetylation was successfully transformed chitin into chitosan. However, the carbonyl group absorption band at 1690 cm<sup>-1</sup> showed that chitosan is not perfectly deacetylated. Due to that reason, it is a need to calculate the degree of deacetylation (DD) based on the baseline method [14], according to the following equation:

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

with

A = absorbans

P<sub>0</sub> = % transmitans at baseline, and

P = % transmitans at minimum peak

$$\% DD = 1 - \left[ \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1.33} \right] \times 100\%$$

with

A<sub>1655</sub> = absorbance at 1655 cm<sup>-1</sup> wavelength number (amide absorption)

A<sub>3450</sub> = absorbance at 3450 cm<sup>-1</sup> wavelength number (hydroxyl absorption)

1.33 = A<sub>1655</sub> for chitin which is fully deacetylated (100%)

Based on chitosan spectra (Fig 3), it is resulted a degree of deacetylation of 87.78%. It means only about 87.78% residual chitin which is deacetylated into chitosan. The degree of acetylation of commercial chitosan is between 20-25%. In other words, the degree of deacetylation is between 70-90% [15]. It can be concluded that deacetylation done in this research is in a good range.

To determine the size of chitosan synthesized, it is necessary to measure the chitosan particles using SEM. SEM-EDS of chitosan showed that chitosan has a particle size of 87 nm.

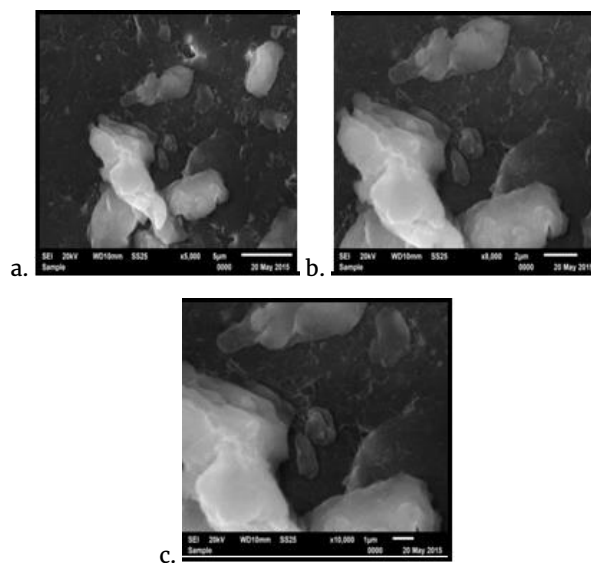


Figure 4. SEM 3,000×; 8,000×; and 10,000×

SEM analysis of chitosan was done to determine the morphology of the surface that will be coated in nanosilika. A magnification of 3,000×; 8,000×; and 10,000× showed that the particle size are 97 nm, 75 nm, and 45 nm, respectively. These data indicating that the chitosan has a nano sized particles. These sizes also indicated that chitosan nanoparticle will be coated well on silica. The observation from transmission electron microscope (TEM) gave information on the particle shape. In the present study, TEM images showed that the nano chitosan has a uniform shape. It also showed a lower physical aggregation of the chitosan nanoparticles. Typical TEM micrograph of the chitosan nanoparticles was shown Fig. 5. below:

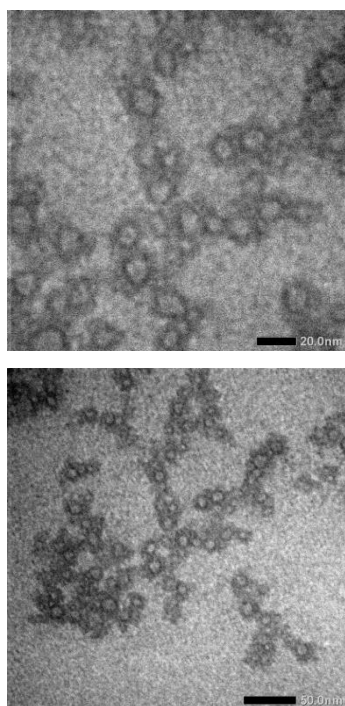


Figure 5. TEM of the chitosan nanoparticles

#### 4. Conclusion

It can be concluded that the Chitin has been isolated successfully from shrimp shells. Deproteinized chitin was obtained with yield of 62.60%, and then demineralization with a yield of 52.60%. The depigmentation of chitin providing a yield of 75.56%. Deacetylation of chitin into chitosan obtaining a yield of 79.02% with the degree of deacetylation value of 87.78%. Characterization by SEM found that nano chitosan has a particle size of 87 nm. While TEM images showed that the nano chitosan has a uniform shape and a lower physical aggregation.

#### 5. Acknowledgement

The authors would like to thank the Directorate of Research and Community Service (Ditlitabmas), Directorate General of Higher Education Ministry of Education and Culture, which has provided research grant.

#### 6. References

- [1] Olga Kammona and Costas Kiparissides, Recent advances in nanocarrier-based mucosal delivery of biomolecules, *Journal of Controlled Release*, 161, 3, (2012) 781-794 <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.05.040>
- [2] Jean Lucas de Oliveira Arias, Antunielle Schneider, Jahir Antonio Batista-Andrade, Augusto Alves Vieira, Sergiane Souza Caldas and Ednei Gilberto Primel, Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk, *Food Chemistry*, 240, (2018) 1243-1253 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.041>

- [3] M. D. Teli and Javed Sheikh, Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon, *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 5, (2012) 1195-1200 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.04.003>
- [4] Sintya Tunggal Pramesti, Khabibi Khabibi and Nor Basid Adiwibawa Prasetya, Pemanfaatan Kitosan Termodifikasi Asam Askorbat sebagai Adsorben Ion Logam Besi(III) dan Kromium(III), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15, 2, (2012) 70-75 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.15.2.70-75>
- [5] Ita Noor Khamidah, Muhammad Cholid Djunaidi and Khabibi Khabibi, Pemanfaatan Kitosan Termodifikasi Asam Askorbat Sebagai Adsorben Ion Logam Kobalt (II) dan Nikel (II), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 14, 1, (2011) 21-25 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.14.1.21-25>
- [6] Eun Suh Kim, Ji-Soo Lee and Hyeon Gyu Lee, Nanoencapsulation of Red Ginseng Extracts Using Chitosan with Polyglutamic Acid or Fucoidan for Improving Antithrombotic Activities, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 23, (2016) 4765-4771 <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00911>
- [7] Sara Baptista da Silva, Manuela Amorim, Pedro Fonte, Raquel Madureira, Domingos Ferreira, Manuela Pintado and Bruno Sarmiento, Natural extracts into chitosan nanocarriers for rosmarinic acid drug delivery, *Pharmaceutical Biology*, 53, 5, (2015) 642-652 <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2014.935949>
- [8] Mike T. L. Tobing, Nor Basid Adiwibawa Prasetya and 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 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.14.3.83-88>
- [9] Emmanuel N. Koukaras, Sofia A. Papadimitriou, Dimitrios N. Bikiaris and George E. Froudakis, Insight on the Formation of Chitosan Nanoparticles through Ionotropic Gelation with Tripolyphosphate, *Molecular Pharmaceutics*, 9, 10, (2012) 2856-2862 <http://dx.doi.org/10.1021/mp300162j>
- [10] Xiaomei Wang, Na Chi and Xing Tang, Preparation of estradiol chitosan nanoparticles for improving nasal absorption and brain targeting, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 3, (2008) 735-740 <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.07.005>
- [11] S. Rayane de Queiroz Antonino, R. Bianca Lia Fook, A. Vitor de Oliveira Lima, I. Raid de Farias Rached, P. Eunice Lima, J. Rodrigo da Silva Lima, A. Carlos Peniche Covas and V. Marcus Lia Fook, Preparation and Characterization of Chitosan Obtained from Shells of Shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone), *Marine Drugs*, 15, 5, (2017) <http://dx.doi.org/10.3390/md15050141>
- [12] Islem Younes and Marguerite Rinaudo, Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications, *Marine Drugs*, 13, 3, (2015) <http://dx.doi.org/10.3390/md13031133>
- [13] Larng Tsaih Ming and H. Chen Rong, The effect of reaction time and temperature during heterogenous alkali deacetylation on degree of deacetylation and

- molecular weight of resulting chitosan, *Journal of Applied Polymer Science*, 88, 13, (2003) 2917-2923  
<http://dx.doi.org/10.1002/app.11986>
- [14] Tanveer Ahmad Khan, Kok Khiang Peh and Hung Seng Ch'ng, Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 5, 3, (2002) 205-212
- [15] R. F. Weska, J. M. Moura, L. M. Batista, J. Rizzi and L. A. A. Pinto, Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology, *Journal of Food Engineering*, 80, 3, (2007) 749-753  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.006>





## Natural Zeolite Modification using Dithizone and Its Application as Adsorbent of Cu(II)

Agnidian Setyorini <sup>a</sup>, Suhartana <sup>a\*</sup>, Pardoyo <sup>a</sup>

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

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

### Article Info

Keywords:  
 Zeolite, Dithizone,  
 Adsorption

Kata Kunci:  
 Zeolit, Ditizon,  
 Adsorpsi

### Abstract

Activation of zeolites with dithizone by reflux method was carried out at 50°C for 6 hours and the results were analyzed using FTIR and GSA. Furthermore, the modified zeolite dithizone was used to adsorb Cu<sup>2+</sup> metal ions on variations of adsorption time of 5, 10, 15, 30 and 60 min, variation of adsorption pH 2, 3, 4, 5 and 6 as well as variations in concentrations of 250, 500, 1000, 1500 and 2000 ppm. The results showed that there was a vibrational shift and a new peak emerged on the FTIR zeolite activation spectrum and modified zeolite indicating that the dithizone was present in the zeolite. GSA analysis results show that the surface area of activated zeolite is greater than natural zeolite ie 4,205 m<sup>2</sup>/g and 5,459 m<sup>2</sup>/g respectively, whereas dithizone-zeolite had a much smaller surface area of 0.925 m<sup>2</sup>/g. The selectivity of adsorption of activated zeolite to Cu(II) was greater than of dithizone-zeolite. The optimum adsorption contact time was 10 min for dithizone-zeolite and 30 min for activated zeolite. The optimum adsorption pH was at pH 5 for both adsorbents, as well as the optimum adsorption concentration at 250 ppm for both adsorbents.

### Abstrak

Aktivasi zeolit dengan ditizon dengan metode refluks telah dilakukan pada suhu 50°C selama 6 jam dan hasilnya dianalisis menggunakan FTIR dan GSA. Selanjutnya, zeolit termodifikasi ditizon digunakan untuk mengadsorpsi ion logam Cu<sup>2+</sup> pada variasi waktu kontak adsorpsi 5, 10, 15, 30 dan 60 menit, variasi pH adsorpsi 2, 3, 4, 5 dan 6 serta variasi konsentrasi 250, 500, 1000, 1500 dan 2000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi pergeseran vibrasi dan muncul peak baru pada spektra FTIR zeolit aktivasi dan zeolit termodifikasi yang menunjukkan bahwa ditizon telah ada dalam zeolit. Hasil analisis GSA menunjukkan bahwa luas permukaan zeolit teraktivasi lebih besar daripada zeolit alam yaitu masing-masing 4,205 m<sup>2</sup>/g dan 5,459 m<sup>2</sup>/g, sedangkan zeolit ditizon memiliki luas permukaan yang jauh lebih kecil yaitu 0,925 m<sup>2</sup>/g. Selektivitas adsorpsi zeolit aktivasi terhadap ion logam Cu lebih besar daripada zeolit ditizon. Diperoleh waktu kontak adsorpsi optimum 10 menit untuk zeolit ditizon dan 30 menit untuk zeolit aktivasi. pH adsorpsi optimum berada pada pH 5 untuk kedua adsorben, begitu pula konsentrasi adsorpsi optimum pada 250 ppm untuk kedua adsorben.

### 1. Pendahuluan

Tembaga termasuk ke dalam logam berat esensial, artinya meskipun bearacun dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme. Toksisitas dari logam tembaga baru akan bekerja dan memperlihatkan

pengaruhnya bila logam ini telah masuk ke dalam tubuh organisme dalam jumlah besar atau melebihi nilai ambang batasnya [1].

Beberapa metode yang dapat dilakukan untuk mengolah ion logam berat antara lain adalah netralisasi,

presipitasi, pertukaran ion, biosorpsi, dan adsorpsi. Adsorpsi dapat dilakukan terhadap logam berat dengan menggunakan berbagai macam adsorben, di antaranya adalah zeolit, alofan, kitin-khitosan, biosorben dari spesies alga, *fly ash*, karbon aktif dan selulosa [2].

Bagian permukaan zeolit sangat luas, sehingga sangat baik bila dimanfaatkan sebagai adsorben [3]. Zeolit meskipun ketersediaannya sangat melimpah, kristalinitas zeolit alam tidak terlalu tinggi, ukuran pori tidak seragam, aktivitas katalitik rendah, dan mengandung banyak pengotor. Oleh karena itu, zeolit perlu diaktivasi, dan dimodifikasi sebelum digunakan sebagai penjerap logam berat [4].

Ditizon merupakan ligan yang sensitif dan spesifik karena mengandung banyak atom donor N, gugus -NH serta -SH sebagai donor pasangan elektron membentuk khelat dengan adsorben dalam mengadsorpsi ion logam transisi termasuk Pb, Cd dan Hg [5]. Penelitian ini dilakukan untuk memodifikasi zeolit alam menggunakan ditizon dengan tujuan meningkatkan kemampuan adsorpsi zeolit terhadap ion logam Cu(II).

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ditizon, zeolit alam Bayat Klaten, tembaga sulfat pentahidrat, etanol 96%, dietil eter, asam klorida 3 M, asam klorida 0,1 M, natrium hidroksida 0,1 M, aquades. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas standar penelitian, vial, pipet, *stirer*, vakum, oven, satu set alat refluks, FTIR *shimadzu*, *Quantachrome AsiQwin Automated Gas Sorption*, AAS.

### Preparasi dan Aktivasi Zeolit Alam

Zeolit alam Bayat Klaten dicuci dengan aquades, dikeringkan, dihaluskan dan diayak 170 mesh. Disaring dengan pompa vakum dan dikeringkan. Zeolit alam 50 g direndam ke dalam 100 mL larutan HCl 3N selama 24 jam. dikeringkan pada suhu 120°C selama 3 jam. Zeolit alam dikarakterisasi dengan Spektroskopi *Fourir Transform Infrared* (FT-IR) serapan atom untuk mengetahui gugus fungsi sebelum dilakukan modifikasi dengan ditizon.

### Modifikasi Zeolit

Difeniltiokarbazon (ditizon) sebanyak 2,56 gram (~10,0 mmol) dimasukkan ke dalam 500 mL labu bulat dan dilarutkan sempurna dalam 400 mL etanol 96% dengan pemanasan pada 50°C. Larutan kemudian ditambah dengan 10 gram zeolit alam dan direaksikan selama 6 jam pada suhu tersebut. Fase zeolit yang telah dimodifikasi disaring dan dicuci menggunakan 50 mL etanol sebanyak tiga kali ulangan kemudian dicuci dengan 50 mL dietil eter. Hasil yang dihasilkan kemudian dikeringkan-udarkan semalam [6]. Zeolit ditizon (ZD) yang diperoleh kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan *Fourir Transform Infrared* (FT-IR) spektroskopi serapan atom untuk mengetahui gugus fungsi setelah dilakukan modifikasi dengan ditizon.

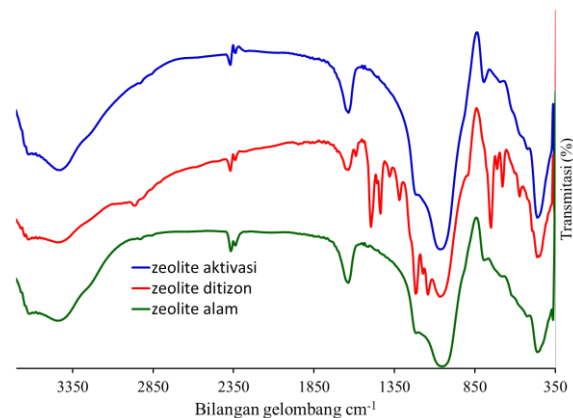
## Uji Adsorpsi

Pada uji ini dilakukan 3 variasi yaitu variasi waktu kontak, pH dan konsentrasi. Variasi waktu kontak dilakukan dengan mencampurkan 25 ml larutan ion Cu (II) 500 ppm dengan 0,2 gram zeolit ditizon divariasikan dengan waktu kontak 5, 10, 15, 30 dan 60 menit. Konsentrasi filtrat diukur menggunakan spektrometer serapan atom [7]. Perlakuan di atas diulang dengan zeolit alam.

Variasi pH 2, 3, 4, 5 dan 6 dilakukan dengan menambahkan NaOH 0.1 M atau HCl 0.1 M tetes demi tetes. Setelah pH tercapai, sebanyak 0.2 g zeolit ditizon dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup. Larutan dikocok menggunakan magnetik stirer selama waktu kontak optimum, lalu disaring. Filtrat dianalisis konsentrasinya menggunakan spektrometer serapan atom [7]. Perlakuan di atas diulangi dengan menggunakan zeolit alam.

Sebanyak 25 mL larutan ion Cu (II) divariasikan konsentrasinya menjadi 250, 500, 1000, 1500 dan 2000 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL. Setelah itu, sebanyak 0.2 g zeolit termodifikasi ditizon dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup. Larutan dikocok menggunakan magnetik stirer dengan waktu kontak dan pH optimum. Konsentrasi filtrat diukur menggunakan spektrometer serapan atom [7]. Perlakuan di atas diulang dengan zeolit alam.

## 3. Hasil dan Pembahasan

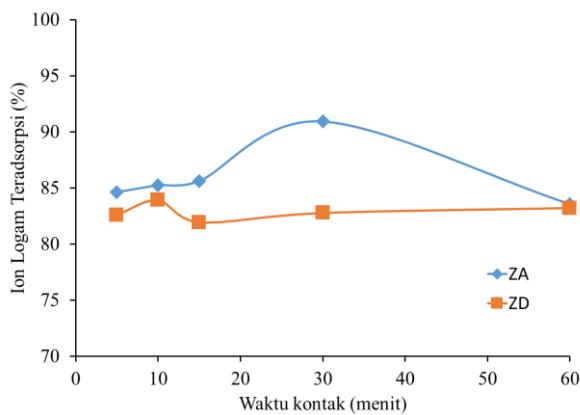


Gambar 1. Spektra FTIR Zeolit Alam, Zeolit Aktivasi dan Zeolit Ditizon

Secara spektroskopis, zeolit dapat diamati pada rentang bilangan gelombang 300-1300  $\text{cm}^{-1}$ . Bilangan gelombang tersebut merupakan daerah utama serapan ikatan tetrahedral dari komponen utama penyusun zeolit,  $\text{SiO}_4^{4-}$  dan  $\text{AlO}_4^{5-}$ . Rentangan simetri O-Al-O atau O-Si-O pada internal tetrahedral akan muncul pada daerah 650-720  $\text{cm}^{-1}$  sedang untuk pertautan eksternal akan muncul pada 750-820  $\text{cm}^{-1}$ . Tekukan Si-O atau Al-O akan muncul pada daerah 420-500  $\text{cm}^{-1}$ , sedangkan serapan pada daerah 950-1250  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan rentangan asimetri (Wietkamp dan Puppe 1999). Rentangan asimetri zeolit alam sebelum dan sesudah aktivasi pada penelitian ini ditunjukkan pada pita 1049,28  $\text{cm}^{-1}$  dan 1064,71  $\text{cm}^{-1}$ . Pada gambar 1 terlihat

bahwa ada beberapa pergeseran spektra dari zeolit aktif menjadi zeolit ditizon yaitu pada bilangan gelombang 462,92 cm<sup>-1</sup> menjadi 447,49 cm<sup>-1</sup> yang menunjukkan vibrasi tekuk Si-O dan Al-O, 794,67 cm<sup>-1</sup> menjadi 748,38 cm<sup>-1</sup> yang merupakan vibrasi tekuk Si-O, serta pada 3425,58 cm<sup>-1</sup> menjadi 3433,29 cm<sup>-1</sup> yang merupakan vibrasi ulur O-H. Selain itu ada beberapa serapan baru yang muncul dalam spektra zeolit ditizon yaitu pada 1141,86 cm<sup>-1</sup> yang menandai vibrasi ulur -C=S, 1496,76 cm<sup>-1</sup> menandai vibrasi tekuk -NH, 1435,04 cm<sup>-1</sup> menandai vibrasi ulur -N=N-, 2445,74 cm<sup>-1</sup> menandai vibrasi -SH, 2276 cm<sup>-1</sup> menandai vibrasi C=N, 2962,66 cm<sup>-1</sup> menandai vibrasi -C-N- dari ditizon, selain itu pada 3093,82 cm<sup>-1</sup> menandai ikatan C-H aromatik yang makin memperkuat bahwa zeolit aktif telah termodifikasi ditizon.

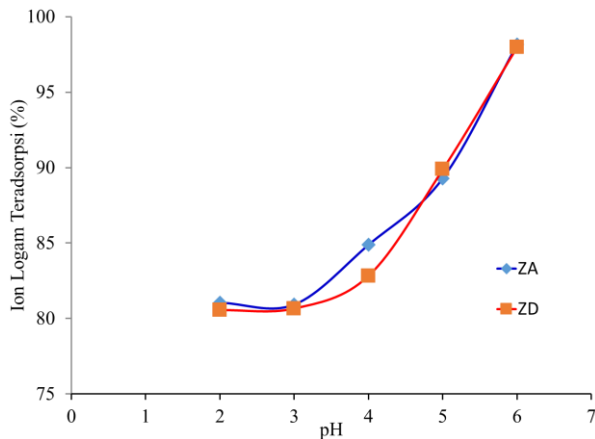
**Pengaruh waktu kontak pada adsorpsi ion logam**



Gambar 2. Pengaruh waktu kontak pada adsorpsi logam

Gambar 2 menunjukkan bahwa antara Zeolit Aktif (ZA) dengan Zeolit-Ditizon (ZD) memiliki waktu kontak optimum yang berbeda. Adsorpsi logam Cu dengan ZA mencapai waktu kontak optimum pada 30 menit sedangkan ZD pada 10 menit dengan kapasitas adsorpsi 0,0568 g/g dan 0,0524 g/g. Pada waktu tersebut terjadi adsorpsi paling besar dimana konsentrasi larutan yang teradsorpsi maksimal.

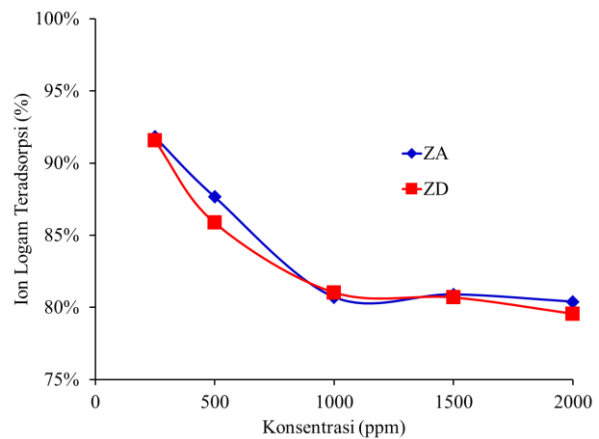
**Pengaruh pH pada adsorpsi ion logam**



Gambar 3. Pengaruh pH pada adsorpsi Cu<sup>2+</sup>

Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin besar pH larutan maka kapasitas adsorpsi adsorben semakin meningkat. Logam Cu dalam larutan dapat mengendap pada pH basa yaitu pada rentang pH 6 ke atas. Logam Cu yang mengendap kemudian tersaring dengan kertas saring, sehingga saat pengukuran konsentrasi kadar Cu dalam larutan berkurang drastis. Berkurangnya konsentrasi logam Cu ini bukan disebabkan proses adsorpsi oleh adsorben melainkan karena terjadinya pengendapan karena pada pH 6 Ksp larutan lebih besar dari pada Ksp Cu yaitu 3 x 10<sup>-19</sup> sedangkan Ksp Cu sebesar 4,8 x 10<sup>-20</sup>. Maka dari itu dalam adsorpsi ini disimpulkan bahwa pH optimum berada pada pH 5 baik pada zeolit aktif maupun zeolit-ditizon.

**Pengaruh konsentrasi pada adsorpsi ion logam**



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi pada adsorpsi Cu<sup>2+</sup>

Gambar 4 menunjukkan bahwa penyerapan optimum logam Cu dicapai pada konsentrasi rendah yaitu konsentrasi 250 ppm. Pada konsentrasi rendah, perbandingan jumlah mol dari ion logam menyebabkan permukaan situs aktif menjadi lebih luas dan adsorpsi dipengaruhi oleh konsentrasi awal larutan yang rendah [8].

**Hasil Analisa Luas permukaan dan Pori**

Untuk mengetahui karakteristik zeolit yang sudah termodifikasi oleh ditizon dilakukan karakteristik fisis yaitu analisa luas permukaan dan distribusi ukuran pori.

Tabel 1. Morfologi pori dan permukaan zeolite alam, zeolit aktifasi dan zeolite ditizon

No	Sampel	Luas Permukaan (m <sup>2</sup> /g)	Volume Pori (cc/g)	Diameter Pori (Å)
1	Zeolit Alam	4,205	0,119	36,336
2	Zeolit Aktif	5,459	0,123	36,51
3	Zeolit Ditizon	0,925	0,024	157,432

Tabel 1 menunjukkan luas permukaan zeolit aktif lebih besar dari zeolit alam. Namun luas permukaan zeolit ditizon lebih kecil dari zeolit aktif. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesa awal yaitu seharusnya luas

permukaan zeolit aktif dengan zeolit ditizon tidak berbeda jauh. Semakin kecilnya luas permukaan zeolit ditizon dikarenakan ditizon yang digunakan untuk modifikasi zeolit mengisi pori dari zeolit itu sendiri, sehingga volume porinya pun juga semakin kecil.

#### 4. Kesimpulan

Kemampuan adsorpsi zeolit ditizon lebih rendah dibandingkan zeolit aktif, dengan waktu kontak optimum 10 menit untuk zeolit ditizon dan 30 menit untuk zeolit aktif, pH optimum yang digunakan yaitu pH 5 untuk kedua adsorben, serta konsentrasi optimum adsorpsi berada pada konsentrasi rendah yaitu 250 ppm untuk kedua adsorben.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Stanley E. Manahan, *Environmental Chemistry*, Seventh Edition, Taylor & Francis, 1999.
- [2] Carmen Paduraru, Lavinia Tofan, Investigations On The Possibility Of Natural Hemp Fibers Use For Zn(II) Ions Removal From Wastewaters, *Environmental Engineering and Management Journal*, 7, 6, (2008) 687-693
- [3] Fernando Ramôa Ribeiro, *Zeolites: Science and Technology*, Springer Netherlands, Netherlands, 1984.
- [4] Shaobin Wang, Yuelian Peng, Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment, *Chemical Engineering Journal*, 156, 1, (2010) 11-24  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.029>
- [5] Zygmunt Marczenko, *Separation and spectrophotometric determination of elements*, 2th edition ed., Ellis Horwood, 1986.
- [6] Mohamed E. Mahmoud, Maher M. Osman, Osama F. Hafez, Abdelrahman H. Hegazi, Essam Elmelegy, Removal and preconcentration of lead (II) and other heavy metals from water by alumina adsorbents developed by surface-adsorbed-dithizone, *Desalination*, 251, 1, (2010) 123-130  
<https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.08.008>
- [7] Achanai Buasri, Nattawut Chaiyut, Lalita Nammueang, Use of Natural Clinoptilolite for the Removal of Lead (II) from Wastewater in Batch Experiment, *Chiang Mai Journal of Science*, 35, 3, (2008) 447-456
- [8] Li Jia Yu, Shyam S. Shukla, Kenneth L. Dorris, Alka Shukla, J. L. Margrave, Adsorption of chromium from aqueous solutions by maple sawdust, *Journal of Hazardous Materials*, 100, 1, (2003) 53-63  
[https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(03\)00008-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(03)00008-6)



## Effect of Acid on Natural Zeolite Dealumination on Indigo Carmine Adsorption Capability

Nanik Sulistyowati <sup>a</sup>, Sriyanti <sup>a\*</sup>, Adi Darmawan <sup>a</sup>

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

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

### Article Info

**Keywords:**  
 zeolite;  
 dealumination;  
 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; HCl;  
 adsorption; indigo  
 carmine

**Kata Kunci:**  
 zeolit; dealuminasi;  
 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; HCl;  
 adsorpsi; indigo  
 carmine

### Abstract

Modifying natural zeolite with dealumination using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HCl, and its application to adsorb indigo carmine has been performed. Dealumination was carried out by reacting a natural zeolite with a mixture of KMnO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and a mixture of KMnO<sub>4</sub>-HCl then refluxed for 5 hours followed by washing with demineralized water until a neutral pH was obtained and dried for 12 hours at 80°C. Dealuminated zeolites were then characterized by XRD, FTIR and Si/Al ratio measurements. Dealuminated zeolite was then used to adsorb indigo carmine in a batch-shaker system for 30 min with concentration variation XRD diffraction shows that natural zeolite and dealuminated zeolite contain modernit minerals. Dealumination increased the Si/Al ratio from 0.935 to 2.075 and 7.912 which meant that dealumination was successful. The indigo carmine adsorption result showed that zeolite adsorption capacity II > zeolite I > natural zeolite. FTIR data showed that there was no change of zeolite structure before and after adsorption

### Abstrak

Memodifikasi zeolit alam dengan dealuminasi menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan HCl, serta aplikasinya untuk mengadsorpsi indigo carmine telah dilakukan. Dealuminasi dilakukan dengan mereaksikan zeolit alam dengan campuran KMnO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan campuran KMnO<sub>4</sub>-HCl kemudian direfluks selama 5 jam dilanjutkan dengan pencucian dengan air demineralisasi hingga pH netral diperoleh dan dikeringkan selama 12 jam pada suhu 80°C. Dealuminated zeolite kemudian dikarakterisasi dengan XRD, FTIR dan pengukuran rasio Si/Al. Dealuminated zeolite kemudian digunakan untuk mengadsorpsi indigo carmine pada sistem batch-shaker selama 30 menit dengan variasi konsentrasi. Difraktogram XRD menunjukkan bahwa zeolit alam dan dealuminated zeolit mengandung mineral modernit. Dealuminasi meningkatkan rasio Si/Al dari 0,935 menjadi 2,075 dan 7,912 yang berarti bahwa dealuminasi berhasil dilakukan. Hasil adsorpsi indigo carmine menunjukkan bahwa kemampuan adsorpsi zeolit II > zeolit I > zeolit alam. Data FTIR menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan struktur zeolit sebelum dan setelah adsorpsi

### 1. Pendahuluan

Zeolit merupakan mineral aluminosilikat terhidrasi yang mengandung alkali/alkali tanah dalam kerangka 3 dimensi. Berdasar sifat fisika dan kimia zeolit yang unik, zeolit banyak dimanfaatkan sebagai penukar ion, adsorben, penyaring molekuler dan katalis [1]. Zeolit

juga dikenal sebagai adsorben dengan kapasitas dan selektivitas adsorpsi tinggi, yaitu dapat memisahkan molekul berdasarkan ukuran, konfigurasi dan kepolarannya. Zeolit alam mempunyai rasio Si/Al rendah, cenderung selektif terhadap senyawa polar [1]. Untuk meningkatkan daya adsorpsi dan daya tukar

ionnya terhadap ion maupun senyawa tertentu perlu adanya modifikasi. Beberapa teknik modifikasi antara lain dehidrasi, pertukaran ion, kalsinasi, dealuminasi dan proses hidrotermal [2].

Dealuminasi merupakan suatu metode modifikasi zeolit melalui pengurangan Al di permukaan dan dari kerangka zeolit. Zeolit terdealuminasi mempunyai rasio Si/Al tinggi (10-100) dan bersifat organofilik hidrofobik. Afinitas terhadap air berkurang dan cenderung mengadsorpsi senyawa organik non polar yang terlarut di dalam air tersebut [1].

Zeolit hasil modifikasi mempunyai rasio Si/Al yang tinggi sehingga mempunyai struktur pori yang terbuka akibatnya luas permukaannya meningkat. Rasio Si/Al yang tinggi ini menyebabkan zeolit terdealuminasi mampu mengadsorpsi senyawa organik non polar di antaranya pati dalam limbah tapioka [3].

Menurut Ermawati [4], dealuminasi zeolit alam Wonosari dengan HCl optimum pada konsentrasi 6 N. Filho *dkk.* [5] telah berhasil melakukan dealuminasi pada lempung dengan menambahkan campuran kalium permanganat dan asam sulfat serta campuran kalium permanganat, asam sulfat dan asam klorida pada lempung disertai pemanasan. Penambahan asam klorida setelah direfluks dengan campuran asam sulfat dan kalium permanganat menunjukkan penurunan kadar aluminium yang cukup tinggi dibandingkan dealuminasi dengan campuran asam sulfat dan kalium permanganat saja. Tetapi dealuminasi dengan campuran asam klorida dan kalium permanganat tidak dilakukan, sehingga perlu dilakukan pengkajian pengaruh penurunan kadar aluminium (dealuminasi) menggunakan campuran asam sulfat dan kalium permanganat serta campuran asam klorida dan kalium permanganat saja. Dengan kata lain perlu diketahui efektivitas HCl dan  $H_2SO_4$  dalam proses dealuminasi dan aplikasinya sebagai adsorben indigo carmine.

Indigo carmine merupakan zat warna organik yang banyak digunakan sebagai pewarna jeans. Limbah cair indigo carmine dalam lingkungan sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Diharapkan zeolit hasil modifikasi mampu menyerap limbah indigo carmine.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi seperangkat alat gelas indikator pH, satu set alat refluks, neraca analitik Mettler AT 200, shaker, XRD-6000 *X-Ray Diffractometer* Shimadzu, IR Shimadzu FTIR-8201PC, Spektroskopi Serapan atom (AAS) dan Spektrofotometer Uv-Vis. Bahan-bahan yang diperlukan meliputi zeolit alam Wonosari,  $H_2SO_4$  p.a 6 M, HCl p.a 6 M,  $KMnO_4$  p.a 0,5, M akuades dan Indigo Carmine

### Dealuminasi zeolit dengan $KMnO_4$ dan $H_2SO_4$ atau HCl

Sebanyak 100 g zeolit direfluks ke dalam  $H_2SO_4$  (untuk zeolit I) atau HCl (untuk zeolit II) 6 M dan  $KMnO_4$  0,5 M dengan perbandingan 100:100 mL selama 4 jam pada suhu 80°C sambil diaduk pelan. Zeolit hasil refluks

dicuci dengan akuades sampai air bekas pencuciannya netral, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 12 jam.

### Karakterisasi Zeolit

Adsorben zeolit alam dan zeolit terdealuminasi dikarakterisasi strukturnya dengan menggunakan XRD (*X-ray Diffraction*) dan Spektroskopi Inframerah, penentuan rasio Si/Al dengan Spektroskopi Serapan Atom (AAS), dan penentuan kemampuan adsorpsi dengan Spektroskopi UV-Vis.

### Adsorpsi Indigo Carmine oleh Adsorben Zeolit Terdealuminasi

Sebanyak 1 g zeolit terdealuminasi dilarutkan dalam 20 mL larutan indigo carmine dengan variasi konsentrasi 10, 20, 30, 50, 100, 150, 200, dan 250 mg/L. Adsorpsi dilakukan dalam sistem *batch-shaker* selama 30 menit pada temperatur kamar. Larutan supernatan disaring dan diukur untuk uji kuantitatif dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis.

## 3. Hasil dan Pembahasan

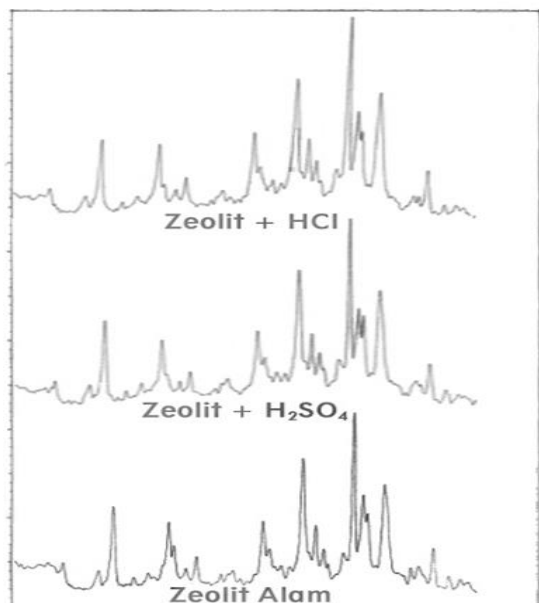
Pada penelitian ini telah dilakukan pengamatan untuk mengetahui kemampuan zeolit terdealuminasi untuk mengadsorpsi limbah cair indigo carmine. Tahapan penelitian meliputi proses dealuminasi dan adsorpsi.

Tahapan dealuminasi bertujuan untuk mengurangi kadar Al dari kerangka dan struktur zeolit. Proses dealuminasi yang dilakukan meliputi pemanasan pada 80°C dalam campuran  $KMnO_4-H_2SO_4$  dan dalam campuran  $KMnO_4-HCl$ . Penggunaan  $KMnO_4$  dalam medium asam berfungsi untuk membersihkan oksida-oksida logam yang terdapat dalam zeolit alam dengan cara mengoksidasinya. Selanjutnya proses pencucian setelah perendaman dengan asam bertujuan untuk menghilangkan ion  $Al^{3+}$ , kation-kation logam yang teroksidasi dan  $KMnO_4$  sisa

Zeolit alam maupun zeolit terdealuminasi dikarakterisasi menggunakan XRD, SSA dan FTIR sedangkan untuk mengukur kemampuan adsorpsinya digunakan Spektrofotometer UV-Vis.

### X-Ray Diffraction (XRD)

Analisis struktur zeolit dilakukan dengan menggunakan XRD-6000 *X-Ray Diffractometer* Shimadzu. Berdasarkan difraktogram hasil difraksi sinar x terhadap zeolit Wonosari, tidak terjadi perubahan struktur kristal penyusun pada sampel zeolit awal maupun zeolit terdealuminasi. Pada sampel zeolit alam dan zeolit terdealuminasi terdapat kandungan mordernit. Gambar 1 menunjukkan spektra XRD zeolit alam dan zeolit terdealuminasi, nampak nilai  $2\theta$  sebesar 25,58; 22,17; 27,66° dan harga  $d$  sebesar 3,48; 4,00; 3,22 Å. Spektra ini menunjukkan karakteristik puncak-puncak dari mordernit yang mirip dengan ASTM (*American Society for Testing and Materials*).



Gambar 1 Spektrogram zeolit alam dan zeolit modifikasi

Setelah membandingkan ketiga difraktogram dari zeolit alam dan zeolit terdealuminasi, ternyata ketiganya mempunyai difraktogram dengan harga  $2\theta$  ( $^\circ$ ) dan harga  $d$  ( $\text{Å}$ ) yang hampir sama, tetapi terdapat perbedaan intensitas. Hal ini berarti bahwa proses dealuminasi tidak merubah struktur kerangka zeolit hanya mengurangi kristalinitas dari zeolit.

Dari difraktogram terlihat adanya penurunan intensitas zeolit terdealuminasi, hal ini terjadi karena zeolit mengalami dekrystalisasi sebagai akibat dari proses dealuminasi. Proses dealuminasi menyebabkan sejumlah atom Al keluar dari kerangka tetrahedral zeolit sehingga zeolit mengalami dekrystalisasi pada satuan sel. Dekrystalisasi akan mengakibatkan meningkatnya struktur kristal yang tidak homogen (lebih *amorf*) sehingga kristalinitasnya berkurang. Tabel 1 menunjukkan harga  $d$  mordenit zeolit alam dan zeolit terdealuminasi yang diperbandingkan dengan ASTM.

Tabel 1 Harga  $d$  mordenit dari zeolit alam, zeolit I, zeolit II dan ASTM

Mordenit		Zeolit alam		Zeolit I		Zeolit II	
$d(\text{Å})$	I (%)	$d(\text{Å})$	I (%)	$d(\text{Å})$	I (%)	$d(\text{Å})$	I (%)
9,100	90	9,131	47	9,15	39	9,132	47
6,610	90	6,622	35	6,630	34	6,617	32
4,530	80	4,539	36	4,541	36	4,537	34
3,480	100	3,483	100	3,484	100	3,481	100
3,390	90	3,399	47	3,399	46	3,400	43

Berdasarkan harga  $d$  di atas dapat disimpulkan bahwa kristalinitas zeolit I lebih besar dari zeolit II. Kristalinitas zeolit I yang tinggi mempunyai arti bahwa susunan kristal dari zeolit I lebih teratur dan homogen, karena Al yang hilang dari permukaan dan kerangka zeolit lebih sedikit. Sedangkan kristalinitas pada zeolit

II lebih rendah karena Al yang hilang selama proses dealuminasi lebih banyak, sehingga zeolit II mempunyai struktur yang lebih *amorf* dibandingkan zeolit I. Hal ini diperkuat dengan data rasio Si/Al zeolit I yang lebih kecil daripada zeolit II, artinya lebih banyak Al yang hilang pada zeolit II daripada zeolit I.

Rasio Si/Al

Berdasarkan analisis data SSA (Spektroskopi Serapan Atom) diperoleh bahwa proses dealuminasi mampu meningkatkan rasio Si/Al dari 0,935 menjadi 2,075 untuk zeolit I dan 7,912 untuk zeolit II, yang ditunjukkan pada tabel 2. Meningkatnya rasio Si/Al zeolit mengindikasikan bahwa proses dealuminasi dengan asam telah berhasil dilakukan.

Tabel 2. Rasio Si/Al.

Jenis Zeolit	Rasio Si/Al
Zeolit alam	0,935
Zeolit I	2,075
Zeolit II	7,912

Peningkatan rasio Si/Al disebabkan karena melarutnya sebagian aluminium di permukaan dan kerangka zeolit pada proses dealuminasi. Nilai energi ikatan Al–O adalah 116 kkal/mol dan energi ikatan Si–O adalah 184 kkal/mol [6], yang berarti bahwa ikatan Al–O lebih lemah dibandingkan ikatan Si–O, sehingga ikatan Al–O lebih mudah putus setelah bereaksi dengan asam.

Faktor lain yang menyebabkan meningkatnya nilai rasio Si/Al adalah sifat Al yang lebih elektropositif dibandingkan Si (elektronegativitas Al adalah 1,5 sedangkan elektronegativitas Si adalah 1,8). Besarnya elektronegativitas mengindikasikan kemampuan suatu atom dalam bersaing mendapatkan elektron dengan atom lain yang berikatan. Semakin besar nilai elektronegativitasnya maka ikatan yang terbentuk akan semakin kuat [7]. Sehingga Al cenderung lebih mudah berikatan ketika ion  $\text{Cl}^-$  atau  $\text{SO}_4^{2-}$  menyerang Al yang bermuatan positif. Sementara Si yang cenderung netral lebih sulit untuk diserang oleh anion.

Besarnya rasio Si/Al juga dipengaruhi oleh kekuatan asamnya. Kekuatan asam HCl lebih besar dari  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , hal ini dapat dilihat dari tetapan disosiasinya ( $K_a \text{ HCl} = 10^7$  sedangkan  $K_a \text{ H}_2\text{SO}_4 = 10^2$ ). Semakin besar harga  $K_a$  maka semakin mudah untuk terdisosiasi, sehingga kemampuan  $\text{Cl}^-$  untuk berikatan dengan  $\text{Al}^{3+}$  lebih besar dari  $\text{SO}_4^{2-}$ . Menurut Perry dan Green [6] energi ikatan Al–Cl adalah 119 kkal/mol sedangkan energi ikatan Al– $\text{SO}_4$  adalah 79 kkal/mol, ini berarti bahwa ikatan yang terbentuk antara Al–Cl lebih kuat dibandingkan dengan ikatan antara Al– $\text{SO}_4$ .

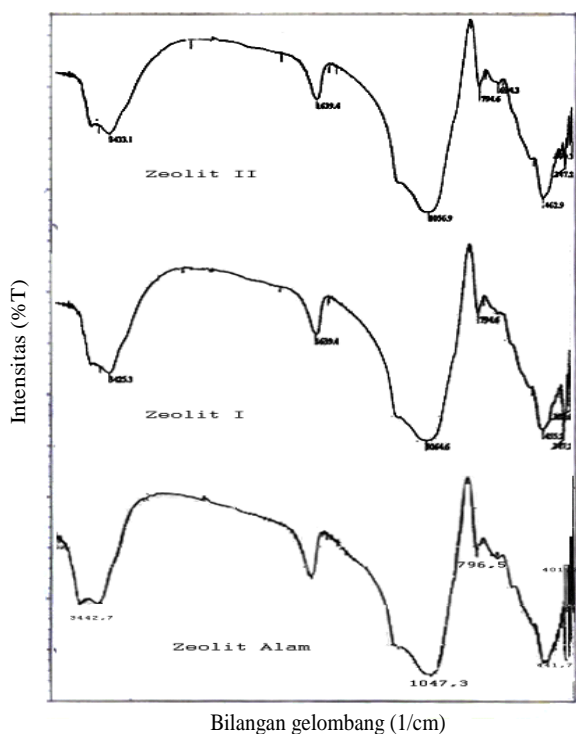
$\text{H}_2\text{SO}_4$  merupakan asam berbasah dua, hal ini berarti bahwa  $\text{H}_2\text{SO}_4$  mengalami dua kali disosiasi dan dua harga  $pK_a$ . Harga  $K_1$  selalu lebih besar dari  $K_2$ , artinya bahwa tingkat disosiasi yang pertama selalu lebih sempurna daripada yang kedua, sehingga jumlah ion  $\text{SO}_4^{2-}$  yang disumbangkan untuk berikatan dengan Al

juga berkurang. Akibatnya Al yang berkurang dari proses dealuminasi hanya sedikit.

Menurut prinsip HSAB, asam keras cenderung untuk berikatan dengan basa keras dan asam lunak cenderung berikatan dengan basa lunak [8].  $Al^{3+}$  merupakan asam keras karena mempunyai ukuran atom yang kecil dan muatan ion yang besar, sehingga jika bergabung dengan anion kecil muatan tinggi (basa keras) bentuk padatan yang dihasilkan mempunyai energi kisi yang tinggi. Sehingga  $Al^{3+}$  lebih senang untuk berikatan dengan ion  $Cl^-$  dibandingkan dengan ion  $SO_4^{2-}$  dikarenakan ukurannya yang kecil.

**Analisis spektra IR zeolit**

Menurut Hamdan [9], zeolit mempunyai vibrasi rentang asimetrik pada daerah  $1250-900\text{ cm}^{-1}$ , yang merupakan asosiasi dari rentangan O-Al-O dan O-Si-O. Daerah rentangan simetrik muncul pada  $680-850\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan rentangan simetrik dari O-Si-O atau O-Al-O, di mana vibrasi eksternal muncul pada daerah  $700-780\text{ cm}^{-1}$  dengan serapan cukup lemah. Hal ini diperkuat dengan serapan pada bilangan gelombang  $420-500\text{ cm}^{-1}$ , yang menunjukkan adanya vibrasi tekuk dari Si-O atau Al-O.

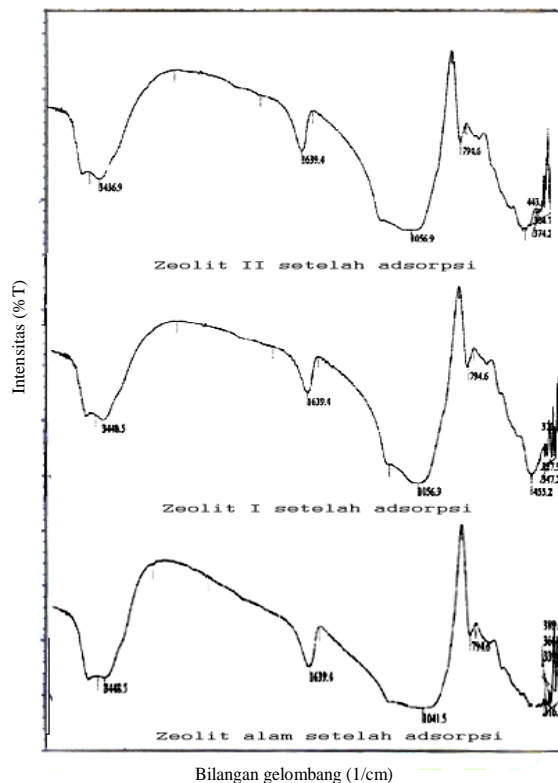


**Gambar 2** Spektra FTIR dari zeolit alam dan zeolit terdealuminasi

Gambar 2 menunjukkan spektra dari zeolit alam dan zeolit terdealuminasi. Pada spektra zeolit alam terlihat adanya gugus O-Si-O dan O-Al-O, serapan kuat pada bilangan gelombang  $1047,3\text{ cm}^{-1}$  yang diperkuat oleh serapan pada  $796,5\text{ cm}^{-1}$ . Rentangan asimetrik O-Si-O yang diperkuat oleh serapan vibrasi tekuk dari Si-O dan Al-O pada  $401,2\text{ cm}^{-1}$  dan  $441,7\text{ cm}^{-1}$ . Serapan-serapan di atas  $1300\text{ cm}^{-1}$  bukan merupakan serapan karakteristik dari zeolit. Serapan pada  $1637,5\text{ cm}^{-1}$  kemungkinan merupakan vibrasi rentangan C=O

dan serapan pada  $3442,7\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi rentangan OH.

Pada zeolit I terlihat adanya pergeseran bilangan gelombang untuk vibrasi O-Si-O dan O-Al-O dari  $1047,3\text{ cm}^{-1}$  menjadi  $1064,6\text{ cm}^{-1}$ , hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi dealuminasi. Menurut Cejka *dkk.* [10], dealuminasi pada mordernit secara spektroskopis dapat diamati pada daerah bilangan gelombang  $300-1300\text{ cm}^{-1}$  berupa pergeseran puncak spektra yang berkaitan dengan vibrasi Al-O dari  $1055\text{ cm}^{-1}$  untuk mordernit alam menjadi  $1095\text{ cm}^{-1}$  setelah pemanasan dalam  $9,4\text{ M HCl}$  selama 18 jam.



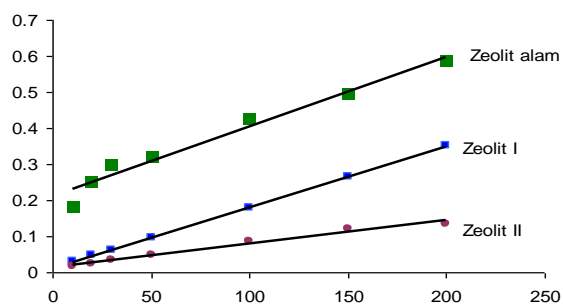
**Gambar 3** Spektra FTIR dari zeolit alam dan zeolit terdealuminasi setelah adsorpsi

Pada Gambar 3 spektra inframerah dari zeolit alam dan zeolit terdealuminasi setelah adsorpsi tidak mengalami perubahan pada pola spektranya. Puncak-puncak yang merupakan karakteristik dari zeolit alam dan zeolit terdealuminasi masih muncul kuat pada spektra ini. Sehingga dapat disimpulkan bahwa adsorpsi antara zeolit dengan indigo carmine merupakan adsorpsi fisik, karena struktur zeolit setelah adsorpsi tidak mengalami perubahan. Ini berarti bahwa indigo carmine tidak berikatan dengan zeolit.

**Adsorpsi Indigo Carmine**

Zeolit dengan rasio Si/Al tinggi memperlihatkan kecenderungan sifat yang hidrofobik. Hal ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan kemampuan adsorpsi indigo carmine oleh zeolit terdealuminasi yang diperlihatkan pada Gambar 4.





Gambar 4 Absorbansi indigo carmine oleh zeolit

Dari gambar 4 terlihat bahwa absorbansi zeolit II terhadap indigo carmine dengan variasi konsentrasi indigo carmine pada panjang gelombang 610 nm lebih rendah dari zeolit I, hal ini berarti bahwa zeolit II lebih banyak menyerap indigo carmine. Sehingga dapat disimpulkan bahwa zeolit II mempunyai kemampuan sebagai adsorben yang lebih baik daripada zeolit I.

Faktor yang mempengaruhi kemampuan adsorpsi zeolit adalah polaritas yang rendah dari zeolit terdealuminasi, yang ditunjukkan dengan meningkatnya rasio Si/Al. Faktor lain yang juga berpengaruh adalah adanya gugus-gugus aktif ( $\text{OH}^-$ ) di permukaan zeolit yang teraktifkan karena proses dealuminasi.

Proses adsorpsi antara zeolit dengan indigo carmine merupakan adsorpsi fisik. Hal ini didukung oleh spektra IR zeolit bahwa setelah adsorpsi zeolit tidak mengalami perubahan struktur, yang berarti indigo carmine tidak berikatan dengan zeolit. Adsorpsi fisik terjadi karena adanya interaksi gaya molekuler yang bersifat reversibel, sehingga semua adsorbat dapat dilepas kembali dengan menurunkan tekanan. Jadi dapat disimpulkan bahwa interaksi antara indigo carmine dengan zeolit adalah dengan cara menempel atau masuk kedalam pori zeolit.

#### 4. Kesimpulan

Proses dealuminasi zeolit alam menggunakan campuran  $\text{HCl-KMnO}_4$  dan  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-KMnO}_4$  telah berhasil dilakukan. Proses dealuminasi memberikan peningkatan rasio Si/Al, tetapi tidak merubah struktur kristal zeolit. Campuran  $\text{HCl-KMnO}_4$  memberikan rasio Si/Al yang lebih tinggi daripada campuran  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-KMnO}_4$ . Zeolit hasil dealuminasi menggunakan campuran  $\text{HCl-KMnO}_4$  lebih bersifat hidrofobik dan merupakan adsorben indigo carmine yang lebih baik dari zeolit alam dan zeolit hasil dealuminasi menggunakan campuran  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-KMnO}_4$ .

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Mursi Sutarti, Minta Rachmawati, Zeolit: Tinjauan Literatur, Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta, 1994.
- [2] Fernando Ramôa Ribeiro, Zeolites: Science and Technology, Springer Netherlands, Netherlands, 1984.

- [3] Arnelli Arnelli, Thonang Arthono, Modifikasi Zeolit Alam untuk Adsorben, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 5, 1, (2002) 8-11 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.5.1.8-11>
- [4] Y. Ermawati, Pengaruh konsentrasi HCl dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  terhadap Dealuminasi Zeolit Alam Wonosari, Jurusan Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [5] Newton L. Dias Filho, Yoshitaka Gushikem, Wagner L. Polito, 2-Mercaptobenzothiazole clay as matrix for sorption and preconcentration of some heavy metals from aqueous solution, *Analytica Chimica Acta*, 306, 1, (1995) 167-172 [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)00673-A](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2670(94)00673-A)
- [6] Robert H Perry, Don W Green, Perry's chemical engineers' handbook, McGraw-Hill Professional, 1999.
- [7] Ralph H Petrucci, Kimia Dasar Prinsip dan Terapan Modern, Penerbit Erlangga, Jakarta, 1985.
- [8] Frank Albert Cotton, Geoffrey Wilkinson, Advanced Inorganic Chemistry, John Wiley & Sons, Incorporated, 1988.
- [9] Halimatun Hamdan, Introduction to Zeolites: Synthesis, Characterization, and Modification, Universiti Teknologi Malaysia, Kuala Lumpur, 1992.
- [10] Jiri Cejka, Herman van Bekkum, A. Corma, F. Schueth, Introduction to Zeolite Molecular Sieves, Elsevier Science, 2007.