

# Biofarmasi

**Journal of Natural Products Biochemistry**

**VOLUME 2  
NOMOR 2  
AGUSTUS 2004  
ISSN: 1693-2242**

**PENERBIT:**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

**ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:**

Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126.

Tel. & Fax. +62-271-663375

Tel. +62-271-646994 Psw. 387

Fax. +62-271-646655.

E-mail: [biology@mipa.uns.ac.id](mailto:biology@mipa.uns.ac.id).

Online: [www.biology.uns.ac.id](http://www.biology.uns.ac.id).

**TERBIT PERTAMA TAHUN:**

2003

**ISSN:**

1693-2242

**PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:**

S u t a r n o

**SEKRETARIS REDAKSI:**

Ahmad Dwi Setyawan

Purin Candra Purnama

**PENYUNTING PELAKSANA:**

Djoko Santoso

Ratna Setyaningsih

Solichatun

Suratman

Surya Dewi Marlina

Tetri Widiyani

Venty Suryanti

**PENYUNTING AHLI:**

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang

Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta

Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung

Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta

Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor

Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

***Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry***

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

VOLUME 2

NOMOR 2

AGUSTUS 2004

ISSN: 1693-2242

## Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh.

### **Nutritional composition analysis of seaweed *Sargassum crassifolium* J. Agardh.**

**TRI HANDAYANI, SUTARNO, AHMAD DWI SETYAWAN\***

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: unsjournals@yahoo.com.

Diterima: 10 Juni 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

---

**Abstract.** The aims of the research were to find out nutritional composition of seaweed *Sargassum crassifolium* J. Agardh i. e. concentration of protein, amino acids, mineral (ash), mineral elements (Ca, Fe, and P), vitamin C, vitamin A, lipid, fatty acids and alginates. *S. crassifolium* is a species of brown seaweed that is consumed as source of food, however, it has not optimally used due to the nutritional composition information does not complete yet. The measurement of protein concentration was done according to Lowry method, while amino acids concentration was measured using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Mineral (ash) was measured by dry ash processing, and mineral elements of Ca, Fe, and P were measured using atomic absorption spectrophotometer (AAS) and UV-Vis spectrophotometer. Vitamin C concentration was measured by titration method, while vitamin A was measured using UV-Vis spectrophotometer. Lipid was measured by extraction method using soxhlet, fatty acids by fatty acids methyl esters (FAMES) method, and alginates were measured by extraction method. The results indicate that the thallus of *S. crassifolium* contains protein in the average of 5.19% (w/w), and 17 amino acids (in  $\mu\text{mol}$  amino acid/g wet weight) varies from 13.77 of glutamic acid to 0.83 for hydroxilicine concentration. Mineral/ash content was 36.93% (w/w), Ca: 1540.66 mg/100 g, Fe: 132.65 mg/100 g, P: 474.03 mg/100 g, vitamin C: 49.01 mg/100 g, vitamin A: 489.11  $\mu\text{g}$  RE/100 g, lipid: 1.63% (w/w), fatty acids concentrations were: 1.45%, 3.53%, 29.49%, 4.10%, 13.78%, 33.58%, 5.94% for lauric acid, meristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid, and linolenic acid subsequently. The concentration of alginates was 37.91% (w/w).

**Keywords:** nutritional composition, seaweed, *Sargassum crassifolium* J. Agardh.

---

### PENDAHULUAN

Pangan merupakan kebutuhan dasar manusia di samping sandang, perumahan, dan pendidikan. Pengembangan bahan pangan bergizi dapat dilakukan dengan memanfaatkan sumber daya alam laut yang pemanfaatannya belum optimal. Sumber daya alam laut merupakan sumber pangan yang sangat potensial. Pemanfaatan dan pengembangan sumber daya ini sangat didukung oleh kondisi perairan Indonesia. Kurang lebih 70% wilayah Indonesia terdiri dari laut, yang pantainya kaya berbagai jenis sumber daya hayati. Sebagai negara kepulauan, Indonesia mempunyai panjang pantai kurang lebih 81.000 km dengan luas perairan pantai sekitar 6.846.000 km<sup>2</sup>. Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia mempunyai potensi yang baik untuk mengembangkan dan memanfaatkan kekayaan lautnya, termasuk rumput laut (Sulistiyawati, 2003).

Prospek rumput laut di masa mendatang cukup baik, mengingat potensi perairan Indonesia masih cukup besar untuk pembudidayaan komoditas tersebut (Anonim, 1991). Rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang

penting, serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia. Tumbuhan ini bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun bukan makanan (industri kosmetik, tekstil, dan farmasi), untuk memenuhi permintaan dalam negeri maupun luar negeri (Indriani dan Sumiarsih, 1992).

Manfaat rumput laut sebagai bahan pangan sudah lama diketahui. Di Indonesia rumput laut sudah lama dimanfaatkan penduduk pantai untuk sayur, lalapan, acar, kue, puding, dan manisan. Salah satu rumput laut yang dapat dimakan adalah *Sargassum* sp., yang merupakan golongan ganggang coklat (Phaeophyta) terbesar di laut tropis. Rumput laut ini mempunyai kelimpahan dan sebaran yang sangat tinggi, terdapat hampir di seluruh wilayah laut Indonesia. (Atmadja dkk., 1996). Secara umum, rumput laut *Sargassum* sp. belum banyak dikenal dan dimanfaatkan. Padahal dari beberapa penelitian, dilaporkan bahwa ini mempunyai kandungan nutrisi/zat gizi cukup tinggi, seperti protein dan beberapa mineral esensial, hanya saja analisis komposisi nutrisinya masih belum lengkap. (Mursyidin dkk., 2002).

*Sargassum crassifolium* J. Agardh banyak dimanfaatkan penduduk pantai untuk sayur dan lalapan. Sampai saat ini, masih sedikit informasi mengenai aspek biokimia dan komposisi nutrisi dari rumput laut ini. Dengan diketahui nilai gizinya diharapkan pemanfaatan rumput laut ini dapat meluas, tidak hanya dinikmati masyarakat sekitar pantai, tetapi juga oleh masyarakat umum. Sehubungan dengan hal tersebut, maka dilakukan penelitian ini. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui komposisi nutrisi rumput laut *S. crassifolium* yang meliputi kadar protein, jenis dan kadar asam amino, kadar vitamin A, kadar vitamin C, kadar abu, kadar elemen mineral (Ca, Fe, dan P), kadar lemak, jenis dan kadar asam lemak, serta kadar alginat (polisakarida).

## BAHAN DAN METODE

### *Waktu dan lokasi penelitian*

Penelitian dilaksanakan bulan September 2003-Januari 2004. Sampel rumput laut diperoleh dari Balai Penelitian dan Budidaya Rumput Laut UNDIIP di Teluk Awur, Jepara. Analisis komposisi nutrisi dilaksanakan di Sub Lab. Biologi dan Sub Lab. Kimia Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta, Laboratorium Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian FTP Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta, dan Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga (UNAIR) Surabaya.

### *Bahan dan alat*

Rumput laut *S. crassifolium*, reagen Lowry, BSA, akuades, asam klorida, natrium hidroksida, larutan buffer, larutan ninhidrin, akuabides. Gas nitrogen, standard asam amino, asam nitrat, asam perklorat, asam sulfat, amonium molibdat, aminonafthol sulfonat, standard mineral (Ca, Fe dan P), asam metafosfat, asam asetat, 2,6-diklorofenol indofenol, aseton, heksana, kloroform, trifluoroasetat, standard vitamin A dan C, petroleum eter, boron trifluorida, metana, natrium karbonat, kalsium karbonat dan isopropanol.

### *Cara kerja*

#### **Analisis protein**

Kadar protein diukur dengan metode Lowry menggunakan spektrofotometer (Slamet dkk., 1990). Rumput laut sebanyak 1 g diekstrak dengan akuades sampai volume 200 ml dan disaring dengan kertas saring. 1 ml larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambah dengan 2 ml Lowry D, segera digojog dengan vortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit, ditambah 3 ml Lowry E, kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 45 menit dan segera diukur absorbansinya pada 590 nm. Dibuat kurva

standard bovin serum albumin dengan konsentrasi 0,06; 0,12; 0,18; 0,24; 0,3 mg/ml akuades, sehingga diperoleh garis regresi hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi protein. Berdasarkan garis ini kandungan protein cuplikan dapat diketahui.

#### **Analisis asam amino**

Asam amino dianalisis dengan menggunakan metode reaksi ninhidrin pasca kolom, dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Rumput laut segar sebanyak  $\pm$  5 mg dimasukkan dalam tabung reaksi bertutup. Ditambahkan 1 ml HCl 6 N ke dalam tabung dan dialiri dengan gas nitrogen, kemudian tabung ditutup. Sampel dihidrolisis dengan cara dimasukkan ke dalam oven selama 22 jam pada suhu 110°C. Setelah 22 jam, sampel dikeringkan dengan gas nitrogen sambil direndam dalam air hangat ( $\pm$  35°C). Untuk analisis sampel selanjutnya ditambah 0,5 ml NaOH 0,01 N dan didiamkan selama 4 jam pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 1,5 ml HCl 0,02 N dan digetarkan dengan gelombang ultrasonik selama 5 menit. Cairan sampel disaring dengan kertas whatman 0,2  $\mu$ m dan siap untuk diinjeksikan pada KCKT untuk pemisahan asam amino.

#### **Analisis abu (mineral total)**

Kadar abu (total mineral) dianalisis berdasarkan metode pengabuan (Sudarmadji, dkk., 1984). Rumput laut kering sebanyak 1 gram, dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah diketahui beratnya. Krus porselin dan rumput laut dipijarkan dalam furnace suhu 600°C sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan dan diperoleh berat konstan. Kadar abu sebagai kadar mineral.

#### **Analisis elemen mineral**

Elemen mineral kalsium dan besi (Ca dan Fe) dianalisis dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS), menurut Slamet dkk., (1990) dengan urutan kerja sebagai berikut: rumput laut kering ditambah dengan 10 ml asam nitrat pekat dan dibiarkan selama semalam. Dipanaskan hingga volume cairannya menjadi  $\pm$  3 ml. Larutan ditambah dengan 2 ml larutan asam perklorat pekat, dan dipanaskan hingga larutan menjadi putih jernih, kemudian diencerkan dengan akuades sampai 100 ml. Larutan yang diperoleh sebagai larutan induk. Larutan siap diukur kadar mineralnya (Ca dan Fe) dengan AAS.

Elemen mineral fosfor (P) dianalisis dengan menggunakan UV-Vis spektrofotometer (Slamet dkk., 1990). Larutan induk sebanyak 1 ml diencerkan menjadi 25 ml. Sebanyak 5 ml larutan hasil pengenceran ditambah dengan 2 ml reagen ammonium molibdat dan 0,5 ml aminonafthol sulfonat, kemudian digojog dengan vortex. Larutan siap untuk dianalisis kadar fosfornya

dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Membuat standard fosfor dengan konsentrasi 0,004; 0,008; 0,016; 0,02 mg/ml ( 4; 8; 12; 16; 20 ppm).

#### Analisis $\beta$ -karoten (vitamin A)

Karoten diukur dengan menggunakan metode dari Slamet dkk. (1990). Rumput laut yang telah dihaluskan diambil 3 gram, kemudian ditambah dengan 30 ml aseton-heksan (3: 7), kemudian direfluks selama 1 jam. Ekstrak disaring dan diencerkan menjadi 50 ml dengan 9% aseton dalam heksan. Filtrat sebanyak 3 ml ditambah 2 ml trifluoroasetat dalam kloroform (2:1). Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm. Membuat standard  $\beta$ -karoten dengan konsentrasi 3, 6, 9, 12, dan 15  $\mu$ g  $\beta$ -karoten per ml. Dibuat kurva standard  $\beta$ -karoten sehingga diperoleh garis regresi hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.

#### Analisis vitamin C

Vitamin C dianalisis dengan menggunakan metode titrasi 2,6 D (Sudarmadji dkk., 1984). Rumput laut segar sebanyak 25 gram, diekstrak dengan 100 ml akuades. Diambil 10 ml filtrat dan ditambah dengan 10 ml reagen HPO<sub>3</sub>-asam asetat, kemudian digojog sampai larutan merata. Diambil 5 ml larutan dan dititrasi dengan 2,6 D yang telah distandardisasi. Membuat larutan blanko (cairan sampel diganti dengan akuades), kemudian dititrasi dengan 2,6 D yang telah distandardisasi. Titrasi sampel dan blanko masing-masing dibuat 3 ulangan

#### Analisis lemak

Lemak dianalisis berdasarkan metode Soxhlet (Sudarmadji dkk., 1984). Rumput laut kering sebanyak 2 gram, diekstraksi dengan petroleum eter secukupnya. Setelah didestilasi selama 6 jam, destilat dimasukkan ke dalam botol timbang yang bersih dan diketahui beratnya, kemudian petroleum eter diuapkan dengan penangas air sampai larutan agak pekat. Cairan pekat tersebut dikeringkan dalam oven suhu  $\pm$  50°C sampai beratnya konstan. Berat residu dalam botol timbang dianggap sebagai berat lemak.

#### Analisis asam lemak

Asam lemak dianalisis berdasarkan metode dari AOAC (1980), dengan menggunakan kromatografi gas. Rumput laut kering sebanyak 2 gram, diekstraksi dengan petroleum eter secukupnya. Destilat diuapkan pelarutnya dengan penangas air sampai larutan agak pekat. Filtrat (bagian yang tertinggal) diekstraksi dengan 1 ml BF<sub>3</sub>-methane 20% pada tabung reaksi yang ditutup rapat dan dipanaskan dengan penangas air pada suhu  $\pm$  45°C sambil digoyang-goyang selama 30 menit. Larutan diekstrak dengan 2 ml n-heksan, sehingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas adalah ester dan n-heksan. Lapisan inilah yang diinjeksikan pada alat kromatografi gas.

#### Analisis alginat

Alginat dianalisis berdasarkan metode dari Zaelanie dkk. (2001). Rumput laut kering sebanyak 1 gram direndam dalam 10 ml HCl 0,5% selama 30 menit, dilanjutkan dengan perendaman dalam 10 ml NaOH 0,5% selama 30 menit. Sampel kemudian diekstraksi dengan 10 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% pada suhu 50 °C selama 2 jam menggunakan *waterbath*. Kemudian sampel dihancurkan dengan mortar, dan disaring. Filtrat yang diperoleh diasamkan dengan 10 ml HCl 5% selama 5 jam, kemudian dilakukan pemucatan dengan CaCl<sub>2</sub> 1% sebanyak 10 ml. Setelah itu, sampel diendapkan dalam 10 ml NaOH 5% selama 5 jam, kemudian divortex dan dipisahkan dengan setrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Endapan yang diperoleh diberi larutan isopropanol 95% dan dikeringkan pada suhu  $\pm$  50°C. Alginat kering yang diperoleh ditimbang sampai didapatkan berat konstan.

#### Analisis data

Data yang diperoleh dari masing-masing parameter pengujian dihitung nilai rata-rata dan deviasi standardnya. Nilai rata-rata menunjukkan kadar nutrisi, sedangkan deviasi standard menunjukkan tingkat penyimpangan kadar nutrisi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil

Hasil penelitian disajikan pada Tabel 1, 2, 3.

**Tabel 1.** Kadar nutrisi talus *S. crassifolium*.

Jenis nutrisi	Rata-rata kadar (% , b/b)	Keterangan
Protein	5,19 $\pm$ 0,13	Berat basah
Abu dan mineral		
• Abu (mineral)	36,93 $\pm$ 0,34	berat kering
• Ca (mg/100 g)	1540,66 $\pm$ 6,99	berat kering
• Fe (mg/100 g)	132,65 $\pm$ 3,47	berat kering
• P (mg/100 g)	474,03 $\pm$ 1,01	berat kering
Vitamin A ( $\mu$ g RE/100 g)	489,55 $\pm$ 8,4	berat kering
Vitamin C (mg/100 g)	49,01 $\pm$ 0,75	berat kering
Lemak (% , b/b)	1,63 $\pm$ 0,01	berat kering
Alginat		
• Kadar (% , b/b)	37,91 $\pm$ 0,34	berat kering
• Warna	Kuning kecoklatan	berat kering
• pH	6,86 $\pm$ 0,005	berat kering
• Ukuran Partikel	150 mesh	berat kering

**Tabel 2.** Komposisi asam amino talus *S. crassifolium*.

Asam amino	Kadar ( $\mu\text{mol}$ asam amino/g sampel)
Asam glutamat	13,77 $\pm$ 1,22
Asam aspartat	12,92 $\pm$ 1,17
Glisin	12,05 $\pm$ 1,11
Leusin	10,33 $\pm$ 0,93
Alanin	8,38 $\pm$ 0,75
Valin	7,86 $\pm$ 0,71
Serin	7,66 $\pm$ 0,71
Isoleusin	6,90 $\pm$ 0,77
Treonin	6,34 $\pm$ 0,59
Fenilalanin	4,95 $\pm$ 0,44
Prolin	4,92 $\pm$ 0,44
Lisin	4,53 $\pm$ 0,41
Arginin	4,28 $\pm$ 0,38
Tirosin	3,66 $\pm$ 0,51
Sistein	3,09 $\pm$ 0,47
Histidin	1,30 $\pm$ 0,12
Hidroksi lisin	0,83 $\pm$ 0,08

Keterangan: pengukuran berdasarkan berat basah.

**Tabel 3.** Komposisi asam lemak talus *S. crassifolium*.

Asam lemak	Kadar (%)
Asam laurat (12:0)	1,45 $\pm$ 0,08
Asam miristat (14:0)	3,53 $\pm$ 0,11
Asam palmitat (16:0)	29,49 $\pm$ 1,48
Asam palmitoleat (16:1)	4,10 $\pm$ 0,24
Asam oleat (18:1)	13,78 $\pm$ 1,35
Asam linoleat (18:2)	33,58 $\pm$ 1,41
Asam linolenat (18:3)	5,94 $\pm$ 1,49

Keterangan: pengukuran berdasarkan berat kering.

### Protein dan asam amino

#### Protein

Kadar protein dalam bahan makanan sangat menentukan kualitas bahan makanan yang bersangkutan. Pada penelitian ini diperoleh rata-rata kadar protein sebesar 5,19 $\pm$ 0,13% dari berat basah (Tabel 1). Kadar protein talus *S. crassifolium* ini sesuai dengan pendapat Burtin (2003), bahwa rumput laut coklat mengandung protein sebesar 3-9% dari berat basah, sedangkan rumput laut merah dan hijau mengandung protein sebesar 6-20% dari berat basah.

#### Asam amino

Protein tersusun dari asam-asam amino, sehingga hidrolisis protein secara sempurna akan diperoleh asam-asam amino. Dalam penelitian ini, 17 asam amino berhasil diidentifikasi. Konsentrasi asam amino talus *S. crassifolium* dari yang terbanyak secara berurutan adalah: asam glutamat, asam aspartat, glisin, leusin, alanin, valin, serin, isoleusin, treonin, fenilalanin, prolin, lisin, arginin, tirosin, sistein, histidin, dan hidroksi lisin (Tabel 2).

Sembilan asam amino esensial yaitu treonin, sistein, valin, isoleusin, leusin, tirosin, fenilalanin, lisin, dan arginin, serta delapan asam amino non esensial ditemukan pada rumput laut ini. Total asam amino adalah 113,77  $\mu\text{mol}$  asam amino/g sampel (berat basah). Dari total asam amino ini, 51,94  $\mu\text{mol}$  asam amino/g sampel adalah asam amino esensial. Rasio asam amino esensial terhadap semua asam amino adalah 0,46, hampir separuh asam amino pada rumput laut ini terdiri dari asam amino esensial. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa rasio asam amino esensial terhadap asam amino non esensial adalah 0,84.

Ke-17 asam amino yang berhasil diidentifikasi tersebut dapat dikelompokkan menjadi 4 golongan berdasarkan sifat kelarutan dan ionisasi dari gugus R-nya. Asam amino yang termasuk dalam golongan R non-polar adalah: alanin, valin, leusin, isoleusin, prolin, dan fenilalanin. Kelompok R polar tidak bermuatan adalah: glisin, serin, treonin, sistein, dan tirosin. Kelompok R polar yang bermuatan negatif (asam) adalah: asam aspartat dan asam glutamat. Kelompok R polar yang bermuatan positif (basa) adalah: lisin, arginin, histidin, dan hidroksi lisin.

### Abu dan elemen mineral

#### Abu

Abu merupakan komponen dalam bahan makanan yang penting untuk menentukan kadar mineral. Dari hasil pengabuan talus *S. crassifolium* dengan menggunakan *furnace* suhu 600°C diperoleh rata-rata kadar abu sebesar 36,93% dari berat keringnya (Tabel 1). Rata-rata kadar abu rumput laut ini, sesuai dengan pendapat Dharmananda (2002), yang mengemukakan bahwa rumput laut secara umum mengandung kadar abu sampai sekitar 36% dari berat keringnya.

Rumput laut *S. crassifolium* mempunyai kadar abu (mineral) yang tinggi, hal ini diduga berhubungan dengan cara penyerapan hara mineralnya, disamping sebagai bentuk adaptasi terhadap kondisi lingkungan perairan laut yang mengandung berbagai mineral dengan konsentrasi tinggi. Penyerapan hara mineral pada rumput laut dilakukan melalui seluruh permukaan talus, tidak melalui akar, sehingga penyerapan hara mineral lebih efektif. Banyaknya hara mineral yang diserap mempengaruhi kadar abu pada jaringan rumput laut, sehingga kadar abu rumput laut ini tinggi.

#### Elemen mineral (Ca, Fe, dan P)

Dalam bahan makanan terdapat sejumlah elemen mineral, baik yang dibutuhkan dalam jumlah besar (makro-elemen) maupun yang dibutuhkan dalam jumlah kecil (mikro-elemen). Pada penelitian ini diperoleh rata-rata kadar kalsium talus *S. crassifolium* sebesar 1540,66 mg/100 g berat kering (Tabel 1). Kadar kalsium tersebut lebih kecil dibandingkan dengan kadar

kalsium rumput laut pada umumnya, seperti yang dikemukakan oleh Dharmananda (2002) bahwa kadar kalsium rumput laut secara umum sekitar 4-7% dari berat kering atau sekitar 4000-7000 mg/100 g berat kering. Namun kadar kalsium talus *S. crassifolium* ini lebih besar dibandingkan dengan kadar kalsium rumput laut coklat pada umumnya dan *Sargassum* sp.. Menurut Winarno (1990), kadar kalsium rumput laut coklat sebesar 200-300 mg/100 g (berdasarkan berat kering) dan Rucmaniar dalam Atmaja dkk. (1996) mengemukakan bahwa kadar kalsium *Sargassum* sp. pada umumnya sekitar 0,42% dari berat kering atau sekitar 420 mg/100 g berat kering. Berdasarkan rata-rata kadar kalsiumnya, *S. crassifolium* dapat digunakan sebagai bahan makanan sumber kalsium.

Kadar rata-rata fosfor *S. crassifolium* hasil pengukuran dengan UV-Vis spektrofotometer adalah 474,03 mg/100 g berat kering (Tabel 1). Kadar fosfor rumput laut ini sesuai dengan pendapat Winarno (1990) yang menyatakan bahwa kadar fosfor rumput laut coklat secara umum adalah 0,3-0,6% dari berat kering atau 300-600 mg/100 g berat kering. Kadar fosfor rumput laut ini cukup tinggi, sehingga mempunyai potensi sebagai sumber fosfor.

Mikro-elemen mineral talus *S. crassifolium* yang diukur adalah besi. Kadar besi (Fe) rumput laut ini adalah 132,65 mg/100 g berat kering (Tabel 1). Kadar besi tersebut sesuai dengan pendapat Winarno (1990), yang menyatakan bahwa rumput laut coklat secara umum mengandung besi dengan kadar sebesar 0,1-0,2% dari berat kering atau sebesar 100-200 mg/100 g berat kering. Kadar besi tersebut lebih besar dibandingkan dengan kadar besi talus *Sargassum* sp. pada umumnya, seperti yang dikemukakan oleh Wiqayah (1993) bahwa kadar besi talus *Sargassum* sp. pada umumnya adalah 21,163-58,307 mg/100 g berat kering. Berdasarkan rata-rata kadar besinya, *S. crassifolium* dapat digunakan sebagai bahan makanan sumber besi.

Di antara ketiga elemen mineral yang diukur, kalsium merupakan elemen mineral yang kadarnya tertinggi. Kadar elemen mineral rumput laut dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya. Rumput laut *S. crassifolium* tumbuh di perairan dengan konsentrasi kalsium (Ca): 450 ppm, fosfor (P): 0,07 ppm, dan besi (Fe): 0,02 ppm (Buwono dkk., 1999). Kondisi tempat tumbuh rumput laut ini lebih banyak mengandung kalsium dibandingkan fosfor dan besi, sehingga kadar kalsium pada rumput laut ini lebih besar dibandingkan dengan kadar fosfor dan besi.

#### Vitamin A dan C

##### Vitamin A

Vitamin A termasuk vitamin larut dalam lemak, sehingga hanya terdapat dalam bahan makanan yang mengandung lemak. Dari hasil

pengukuran, diperoleh rata-rata kadar  $\beta$ -karoten sebesar 489,55  $\mu\text{g RE}/100\text{ g}$  berat kering (Tabel 1). Kadar  $\beta$ -karoten pada rumput laut ini sesuai dengan pendapat Burtin (2003) yang menyatakan bahwa rumput laut coklat mempunyai kadar  $\beta$ -karoten antara 300-2800  $\mu\text{g RE}/100\text{ g}$  berat kering. Berdasarkan rata-rata kadar  $\beta$ -karoten tersebut, *S. crassifolium* dapat digunakan sebagai bahan makanan sumber vitamin A.

Aktivitas vitamin A dihitung berdasarkan kadar  $\beta$ -karoten dengan menggunakan nilai setara retinol (Retinol Equivalen; RE). Tee dan Lim (1991) mengklasifikasikan nilai retinol equivalen (RE) pada bahan makanan menjadi 4 kategori yaitu rendah (nilai RE kurang dari 100  $\mu\text{g}$ ), sedang (nilai RE antara 100-499  $\mu\text{g}$ ), tinggi (nilai RE antara 500-999  $\mu\text{g}$ ) dan sangat tinggi (nilai RE lebih dari 1000  $\mu\text{g}$ ). Berdasarkan klasifikasi tersebut, maka nilai RE rumput laut ini adalah sedang. Pigmen pada kloroplas rumput laut coklat lebih didominasi oleh fukosantin, sedangkan pigmen pada kloroplas yang berupa karotenoid khususnya karoten persentasenya lebih kecil. Kadar  $\beta$ -karoten menentukan aktivitas vitamin A, sehingga rumput laut ini mempunyai aktivitas vitamin A sedang.

##### Vitamin C

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air, sehingga jika konsentrasinya dalam tubuh sudah jenuh maka akan dibuang. Pada penelitian ini diperoleh rata-rata kadar vitamin C sebesar 49,01 mg/100 g berat basah (Tabel 1). Kadar vitamin C rumput laut ini lebih rendah dibandingkan dengan kadar vitamin C rumput laut coklat secara umum. Menurut Burtin (2003), kadar vitamin C rumput laut coklat sebesar 50-300 mg/100 g berat basah.

#### Lemak dan asam lemak

##### Lemak

Bahan makanan sumber lemak (trigliserida) dapat berasal dari hewan yang disebut lemak hewani dan dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan yang disebut lemak nabati. Pada penelitian ini diperoleh rata-rata kadar lemak sebesar 1,63% dari berat kering (Tabel 1). Rata-rata kadar lemak rumput laut ini terletak pada rentangan kadar lemak total pada sebagian besar rumput laut yang dilaporkan oleh Mabeau dan Fleurence (1993) dan Dharmananda (2002). Mabeau dan Fleurence (1993), mengemukakan bahwa rumput laut mengandung sangat sedikit lemak, yaitu 1-3% dari berat kering. Sedangkan Dharmananda (2002), mengemukakan bahwa rumput laut secara umum mengandung lemak sebesar 1-5% dari berat kering.

Rumput laut mengandung sangat sedikit lemak. Rumput laut dan tumbuhan pada umumnya menyimpan cadangan makanannya dalam bentuk karbohidrat terutama polisakarida. Sedangkan hewan, menyimpan cadangan

makanannya dalam bentuk lemak dalam jaringan lemak (Sediaoetama, 2000). Perbedaan bentuk penyimpanan cadangan makanan ini menyebabkan lemak nabati umumnya mempunyai persentase yang rendah, sedangkan lemak hewani mempunyai persentase yang tinggi.

### Asam lemak

Lemak merupakan ester asam lemak dan gliserol, sehingga apabila lemak dipecah secara sempurna akan dihasilkan gliserol dan asam-asam lemak. Asam-asam lemak ini yang menentukan kualitas dari lemak itu sendiri, sehingga pengukuran jenis dan kadar asam lemak sangat penting untuk menentukan kualitas lemak. Dalam penelitian ini, 7 asam lemak berhasil diidentifikasi. Asam lemak yang terdapat pada lemak rumput laut ini berdasarkan konsentrasi asam lemak yang terbanyak secara berurutan adalah asam linoleat, asam palmitat, asam oleat, asam linolenat, asam palmitoleat, asam miristat dan asam laurat (Tabel 3).

Asam-asam lemak yang berhasil diidentifikasi tersebut dapat digolongkan menjadi 2 golongan berdasarkan kejenuhan pada rantai alkananya. Asam lemak yang termasuk dalam golongan R jenuh, tidak memiliki ikatan rangkap adalah asam laurat, asam miristat, dan asam palmitat. Sedangkan asam lemak yang termasuk dalam golongan R tidak jenuh, memiliki ikatan rangkap adalah asam palmitoleat, asam oleat, asam linolenat, dan asam linoleat. Asam lemak yang mempunyai R tidak jenuh digolongkan lagi menjadi dua golongan berdasarkan jumlah ikatan rangkapnya yaitu asam lemak tidak jenuh tunggal dan jamak. Kelompok asam lemak tidak jenuh tunggal yang berhasil diidentifikasi adalah asam palmitoleat dan asam oleat. Sedangkan kelompok asam lemak tidak jenuh jamak yang berhasil diidentifikasi adalah asam linoleat dan asam linolenat.

Persentase kandungan asam lemak talus *S. crassifolium* ini menunjukkan bahwa kandungan asam lemak jenuh sebesar 37,52%, sedangkan asam lemak tidak jenuh sebesar 62,48% dengan rincian 43,02% asam lemak tidak jenuh jamak dan 19,46% asam lemak tidak jenuh tunggal. Asam lemak jenuh yang dominan ditemukan adalah asam palmitat (16:0) dan asam lemak tidak jenuh yang dominan adalah asam linoleat (18:2), hal ini sesuai dengan pernyataan Lehninger (1997) bahwa hampir semua asam lemak di alam mempunyai jumlah atom C yang genap, asam lemak dengan 16 dan 18 atom C adalah yang paling dominan, kadar asam lemak tidak jenuh hampir dua kali lipat asam lemak jenuh. Terdapat 2 macam asam lemak esensial pada talus *S. crassifolium* yaitu asam linolenat (asam lemak omega 3) dan asam lemak linoleat (asam lemak omega 6).

### Alginat

Kadar alginat yang diperoleh dari ekstraksi talus *S. crassifolium* yaitu sebesar 37,91% dari berat kering (Tabel 1). Jika dibandingkan dengan standard mutu alginat komersial menurut Duma dan Latif (1985) dalam Handayani (1999) yang berkisar antara 5-15%, maka rumput laut ini mempunyai potensi untuk dijadikan sebagai salah satu bahan mentah dalam pembuatan alginat. Kadar alginat pada rumput laut ini sebanding dengan kadar alginat pada rumput laut yang biasa dibudidayakan sebagai penghasil alginat, yaitu *Laminaria* sp. dan *Fucus* sp. yang mempunyai kadar alginat antara 30-45% dari berat keringnya. (Guiry, 2003).

Alginat yang diperoleh pada penelitian ini mempunyai pH 6,86, ukuran partikel 150 mesh, dan berwarna kuning kecoklatan (Tabel 1). Standard mutu secara umum dari alginat menurut Indriani dan Sumiarsih (1992) adalah ber-pH 3,5-10 dan ukuran partikel 10-200 mesh. Ada penilaian lain bahwa mutu alginat tergantung pada penggunaannya. Alginat yang akan digunakan untuk campuran makanan harus berwarna putih terang. Alginat dalam penggunaan di bidang farmasi harus berwarna putih bersih. Dalam industri lain, alginat dapat berwarna coklat sampai putih. Oleh karena itu, dilihat dari standard mutu alginat berdasarkan warna alginat yang diperoleh, maka alginat hasil ekstraksi dari *S. crassifolium* dengan metode yang telah dilakukan ini hanya cocok digunakan dalam industri untuk diolah kembali menghasilkan alginat yang layak untuk dikonsumsi, meskipun pH dan ukuran partikelnya telah memenuhi standard mutu alginat. *S. crassifolium* berpotensi untuk dijadikan bahan pembuatan alginat, selain kadar alginatnya yang tinggi, dan mutu alginatnya yang memenuhi persyaratan alginat komersial, juga didukung oleh mudah diperolehnya rumput laut jenis ini dan tersedia dalam jumlah yang melimpah di alam.

### Evaluasi nutrisi *S. crassifolium*

Nilai nutrisi dievaluasi dengan membandingkan kadar asam amino esensial talus *S. crassifolium* untuk masing-masing asam amino terhadap asam amino esensial telur. Tabel 4 menunjukkan susunan asam amino esensial talus *S. crassifolium* yang dibandingkan dengan susunan asam amino esensial telur, sebagaimana dilaporkan oleh Sherman dan Lanford (1962). Kualitas protein makanan dinilai berdasarkan 10 asam amino esensial. Hampir semua asam amino esensial talus *S. crassifolium* mempunyai skor kimia rendah. Berdasarkan skor kimia asam amino esensialnya, rumput laut ini mempunyai kualitas protein rendah.

*S. crassifolium* mempunyai kualitas protein rendah dilihat dari skor kimia terhadap asam amino esensial telur. Protein hewani mengandung asam amino esensial lebih lengkap dan susunannya lebih mendekati susunan protein

**Tabel 4.** Skor kimia asam amino esensial talus *S. crassifolium*.

Asam amino esensial	Konsentrasi asam amino (% b/b)		Skor kimia (%) (rasio telur x 100%)
	<i>S. crassifolium</i>	Telur <sup>a)</sup>	
Isoleusin	0,485	0,980	49,49
Leusin	0,720	1,180	61,02
Lisin	0,352	0,900	39,11
Fenilalanin + tirosin	0,789	1,380	57,17
Metionin + sistein	0,394	0,820	48,05
Treonin	0,400	0,550	72,73
Valin	0,490	0,920	53,26
Arginin	0,394	0,830	47,47

Keterangan: Penghitungan kualitas asam amino *S. crassifolium* berdasarkan berat kering. <sup>a)</sup> Sherman dan Lanford (1962).

**Tabel 5.** Perbandingan komposisi proksimat, vitamin C dan vitamin A pada *S. crassifolium* <sup>a)</sup> dengan sayur umumnya <sup>b)</sup>.

Sampel	Protein (%)	Abu (%)	Ca (mg/100g)	Fe (mg/100g)	P (mg/100g)	Le-mak (%)	Vit C (mg/100g)	Vit A (µg RE/100g)
<i>S. crassifolium</i>	<b>5,19</b>	<b>36,93</b>	<b>1540,66</b>	<b>132,65</b>	<b>474,03</b>	<b>1,63</b>	<b>49,01</b>	<b>489,5</b>
Bayam	3,5	2,5	267	3,9	67	0,5	80	60,9
Buncis	2,4	0,7	65	1,1	44	0,2	19	63
Kangkung	3,0	1,3	73	2,5	50	0,3	32	630
Kapri	6,7	1,2	22	1,9	122	0,4	26	68
Kol kembang	2,4	0,5	22	1,1	72	0,2	69	9
Kol putih	1,4	1,1	46	0,5	31	0,2	50	8
Sawi	2,3	1,4	220	2,0	38	0,3	02	646
Selada	1,7	1,0	182	2,5	27	0,3	50	242
Terong	1,1	0,2	15	0,4	37	0,2	5	3
Tomat	1,0	1,3	7	0,4	15	0,2	10	60
Wortel	1,2	1,2	39	0,8	37	0,3	6	1200

Keterangan: a. Nilai rata-rata dari n=3; b. Dep. Kes. RI. (1964) dalam Sediaoetama (2000).

**Tabel 6.** Perbandingan nilai gizi *S. crassifolium* dengan angka kecukupan gizi rata-rata yang dianjurkan per orang per hari (Muhilal, dkk., 1993).

Kriteria	BB (Kg)	Protein (g)	Kalsium (mg)	Fosfor (mg)	Besi (mg)	Vit C (mg)	Vit A (RE)
Laki-laki							
10-12 th	30	45	700	500	14	50	450
13-15 th	45	64	700	500	17	60	600
16-19 th	56	66	600	500	23	60	600
20-59 th	62	55	500	500	13	60	600
>60 th	62	55	500	500	13	60	600
Wanita							
10-12 th	35	54	700	450	14	50	500
13-15 th	46	62	700	450	19	60	500
16-19 th	50	51	600	450	25	60	500
20-59 th	54	48	500	450	26	60	500
>60 th	54	48	450	250	15	50	500
<b>Nilai nutrisi <i>S. crassifolium</i> per 100 g</b>	-	<b>5,19</b>	<b>1540,66</b>	<b>474,03</b>	<b>132,65</b>	<b>49,01</b>	<b>489,55</b>

tubuh manusia dibandingkan dengan protein nabati (Suharjo dan Kusharto, 1992). Perbedaan ini menyebabkan protein nabati mempunyai nilai skor kimia yang rendah dibandingkan dengan protein hewani.

Komposisi proksimat, kadar vitamin A, dan vitamin C talus *S. crassifolium* ditunjukkan pada Tabel 5. Dari tabel ini diketahui bahwa kadar protein dan lemak talus *S. crassifolium* ini relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kadar protein dan lemak sayuran pada umumnya yang dilaporkan oleh Dep. Kes. RI dalam Sediaoetama (2000).

Kadar abu dan elemen mineral (kalsium, fosfor, dan besi) rumput laut *S. crassifolium* ini jauh lebih besar dibandingkan dengan sayuran lokal yang dilaporkan oleh Dep. Kes. RI (1964) dalam Sediaoetama (2000) (Tabel 5). Berdasarkan kadar abu dan elemen mineral pada Tabel 5, dapat dinyatakan bahwa rumput laut ini sangat potensial sebagai bahan makanan sumber mineral terutama sumber kalsium, fosfor, dan besi.

Kadar vitamin A dan vitamin C rumput laut *S. crassifolium* ini terletak di antara rentangan kadar vitamin A dan vitamin C sayuran pada umumnya, sebagaimana yang dilaporkan oleh Dep. Kes. RI (1964) dalam Sediaoetama (2000) (Tabel 5). Berdasarkan kadar vitamin A dan vitamin C pada Tabel 5, rumput laut *S. crassifolium* ini dapat digunakan sebagai bahan makanan sumber vitamin A dan vitamin C.

Nilai nutrisi *S. crassifolium* terhadap pemenuhan kebutuhan nutrisi tubuh dapat diketahui dengan membandingkan nilai nutrisi *S. crassifolium* dengan angka kecukupan gizi rata-

rata yang dianjurkan per orang per hari (Tabel 6). Berdasarkan perbandingan nilai nutrisi dalam Tabel 6, diketahui bahwa *S. crassifolium* mempunyai potensi sebagai sumber kalsium, fosfor, besi, vitamin C, dan vitamin A yang telah mencukupi kebutuhan gizi per orang per hari. Sedangkan kadar protein per 100 gram *S. crassifolium* masih belum mencukupi kebutuhan gizi per orang per hari. Rumput laut *S. crassifolium* mengandung kalsium dua kali lipat dari yang dianjurkan dan mengandung besi lima kali lipat dari yang dianjurkan dalam pemenuhan kebutuhan gizi rata-rata per orang per hari, sehingga penggunaan rumput laut ini sebagai bahan makanan seperti sayur perlu memperhatikan batasan-batasan konsumsinya.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa talus *Sargassum crassifolium* J. Agardh memiliki komposisi nutrisi sebagai berikut: (1) kadar protein sebesar 5,19% (b/b), dengan komposisi asam amino (dalam  $\mu\text{mol}$  asam amino/g sampel segar) yang terdiri dari: asam glutamat: 13,77; asam aspartat: 12,92; glisin: 12,05; leusin: 10,33; alanin: 8,38; valin: 7,86; serin: 7,66; isoleusin: 6,90; treonin: 6,34; fenilalanin: 4,95; prolin: 4,92; lisin: 4,52; arginin: 4,28; tirosin: 3,66; sistein: 3,09; histidin: 1,30; dan hidrosilisin: 0,83; (2) kadar abu (mineral) sebesar 36,93% (b/b), dengan kadar unsur Ca: 1540,66 mg/100 g, P: 474,03 mg/100 g, dan Fe: 132,65 mg/100 g; (3) kadar vitamin A sebesar 489,55  $\mu\text{g}$  RE/100 g dan vitamin C sebesar 49,01 mg/100 g; (4) kadar lemak sebesar 1,63% (b/b), dengan komposisi asam lemak yang terdiri dari: asam laurat (12:0): 1,45%, asam miristat (14:0): 3,53%, asam palmitat (16:0): 29,49%, asam palmitoleat (16:1): 4,10%, asam oleat (18:1): 13,78%, asam linoleat (18:2): 33,58% dan asam linoleat (18:3): 5,94%; (5) kadar alginat sebesar 37,91% (b/b).

Menindak lanjuti penelitian ini maka diperlukan penelitian: (i) mengenai komposisi nutrisi yang lain misalnya Zn, Na, K, Cl, Cu, S, dan Mg pada *S. crassifolium*, serta bahan-bahan pencemar misalnya Cd, Cr, Pb, dan Hg yang terkandung pada rumput laut ini untuk menunjang pemanfaatannya sebagai bahan pangan; (ii) mengenai kandungan metabolit sekunder pada *S. crassifolium* yang dapat menunjang pemanfaatannya di bidang pengobatan (farmasi).

### DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1991. *Rumput Laut di Indonesia: Seaweed in Indonesia*. Jakarta: Bank Bumi Daya.

- AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis*. 15th edition. Virginia: Association of Official Analytical Chemists.
- Atmadja, W.S., A. Kadi, Sulistidjo, dan Rachmaniar. 1996. *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweed. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 2 (4): 1-6.
- Buwono, B., H. Mulyanto, dan Y. Setyawan. 1999. Pengamatan terhadap fluktuasi fitoplankton dan kondisi perairan di Teluk Awur, Jepara. *Journal of Indonesian Marine Sciences* 27 (7): 272-276.
- Darjamuni. 2003. Siklus nitrogen di laut. *Term Paper: Introductory Science Philosophy* 1: 1-13.
- Dharmananda. S. 2002. *The Nutritional and Medicinal Value of Seaweeds Used in Chinese Medicine*. <http://www.itmonline.org/arts/seaweed.htm>. (8 Apr 2003).
- Fleurence, J. 1999. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Review of Trends in Food Science and Technology* 10:25-28.
- Handayani, W. 1999. *Ekstraksi dan Karakterisasi Alginat dari Rumput Laut Sargassum sp.* [Laporan Penelitian]. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian UGM.
- Indriani, H. dan E. Sumiarsih. 1992. *Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-dasar Biokimia*. jilid 1. Penerjemah: Thenawidjaja, M. Jakarta: Erlangga.
- Mursyidin, D.H., D.P. Perkasa, dan Prabowo. 2002. *Pemanfaatan Rumput Laut Sargassum sp. untuk Mengatasi Krisis Ekonomi, Pangan dan Zat Gizi Indonesia*. [Laporan Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Risjani, Y. 1999. Fisiologi nutrisi nitrogen tanaman laut Indonesia: I. Variasi pertumbuhan dan nitrogen interna *Euclima cottoni* dalam hubungannya dengan nitrogen lingkungan. *Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Hayati* 11 (1): 41-57.
- Sedioetama, A.D. 2000. *Ilmu Gizi Untuk Mahasiswa dan Profesi*. Jilid 1. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sherman, H.C. and C.S. Lamford 1962. *Essential of Nutrition*. New York: The Macmillan Company.
- Slamet, D.S., M.K. Mahmud, Muhilal, D. Fardiaz, dan Simarmata. 1990. *Pedoman Analisis Zat Gizi*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Dirjen Bina Gizi Masyarakat.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suhardjo dan C.M. Kusharto. 1992. *Prinsip-prinsip Ilmu Gizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sulistiyowati, H. 2003. Struktur komunitas seaweed (rumput laut) di Pantai Pasir Putih Kabupaten Situbondo. *Jurnal Ilmu Dasar* 4 (1): 58-61.
- Tee, E.S., and C.L. Lim. 1991. Carotenoid composition and content of Malaysian vegetables and fruits by AOAC and HPLC methods. *Journal of Food Chemistry* 41: 303-319.
- Winarno, F.G. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Wiqayah, N. 1989. *Kandungan Nutrien dan Ketersediaan Besi dan Seng Hayati Sargassum sp. Diukur secara In Vitro*. [Laporan Penelitian]. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM..
- Zaelanie, K., T. Susanto, dan B.W. Simon. 2001. Ekstraksi dan pemurnian alginat dari *Sargassum fillipendula*: kajian dari bagian tanaman, lama ekstraksi dan konsentrasi isopropanol. *Jurnal Teknologi Pertanian* 2 (1): 13-15.

## Sintesis Kopoli(Eugenol-DVB) Sulfonat dari Eugenol Komponen Utama Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

### *Synthesis of co-poly(eugenol sulfonate)-DVB from eugenol as a major component of Syzygium aromaticum oils*

DESI SUCI HANDAYANI\*, TRIANA KUSUMANINGSIH, MARIA YULI

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: d\_suci@mipa.uns.ac.id

Diterima: 17 Mei 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

**Abstract.** Cationic co-polymerization between eugenol and divinylbenzene (DVB) (2%, 4%, 6%, 8%, 10% and 12%) with  $\text{BF}_3\text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$  as a catalyst at room temperature without media under nitrogen atmosphere has been investigated. Co-poly (eugenol sulfonate)-DVB has been synthesized by sulfonation of co-poly(eugenol-DVB). In the sulfonation, concentrated sulfuric acid was used as the reagent and  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  as a catalyst. Structure and characterization of co-poly (eugenol-DVB) and Co-poly(eugenol sulfonate)-DVB were analyzed by Infra Red (IR), Differential Thermal Analysis) DTA and UV-Vis. Measurement of the number-average molecular weight (Mn) of copolymer was used Ostwald capillary viscometer. The yields of co-polymerization of eugenol-DVB were solid matter and the highest result was found on a copolymer of 10% of DVB. Its melting point was 69.33°C. The increasing of mole of DVB increase the number-average molecular weight (Mn) of co-poly (eugenol sulfonate)-DVB. A copolymer of 12% of DVB gave the highest molecular weight, Mn = 2984 g/mole. Synthesized of co-poly (eugenol sulfonate)-DVB were solid matter too and the highest result was found on a copolymer of 12% of DVB. Its melting point was 95.5°C.

**Keywords:** Co-polymerization, Sulfonation, Co-poly(eugenol sulfonate)-DVB

### PENDAHULUAN

Polimer dari tahun ke tahun terus diteliti, dikembangkan dan penggunaannya semakin diperluas. Perkembangan industri polimer yang cukup pesat memberikan sejumlah terobosan baru untuk menciptakan berbagai sistem polimer baru maupun pengembangan sistem polimer yang telah ada. Polimer terus menerus menggantikan material tradisional mulai dari konstruksi bangunan (cat, pipa, dan sebagainya), industri kemasan (botol, film, plastik, nampan, dan sebagainya), industri serat kain (poliester, nylon), hingga ke industri otomotif dan pesawat terbang. Oleh karena itu pembuatan dan penggunaan polimer sintesis memegang peranan penting dalam perekonomian masyarakat industri modern.

Minyak cengkeh merupakan salah satu minyak atsiri yang mempunyai nilai ekonomis cukup tinggi dan dihasilkan dalam jumlah yang cukup besar di Indonesia. Minyak daun cengkeh diperoleh dengan cara distilasi uap dari daun cengkeh, *Syzygium aromaticum* L (*Eugenia caryophyllata* Tumberg, *Caryophyllus aromaticus* L). Menurut Sastrohamidjojo (1981), konstituen minyak daun cengkeh dibagi menjadi 2 kelompok yaitu eugenol (sekitar 80%) dan sisanya berupa senyawa fenolat (kariofilena). Eugenol

mempunyai beberapa gugus fungsional (gugus alil, metoksi, dan hidroksi) sehingga dapat diubah menjadi senyawa lain yang lebih bermanfaat.

Polielektrolit dari polimer eugenol dan turunannya semakin luas digunakan. Aplikasi dari polielektrolit antara lain sebagai katalis, membran dan resin penukar ion. Andrea dan Pinnell (1989) memanfaatkan polistirena yang disulfonasi sebagai resin penukar ion. Van der Maarel (1996) mempelajari penggunaan hasil poli(stirena sulfonat) yang disambungsilangkan dengan divinil benzena (DVB) sebagai resin penukar ion. Setyowati (1999) memanfaatkan polimer eugenol yang disambungsilangkan dengan DVB sebagai resin penukar kation.

Polimer eugenol dapat digunakan sebagai resin penukar ion. Penggunaan polimer eugenol sebagai resin penukar ion kurang efektif, karena hanya mempunyai satu pusat reaksi (gugus -OH) yang bersifat lemah. Hal ini dapat diatasi dengan melakukan sulfonasi sehingga pusat reaksi bertambah dan efektifitas sebagai resin penukar ion meningkat.

Peningkatan kualitas resin dengan penambahan zat aditif divinil benzena (DVB) berfungsi untuk menyambungsilangkan polimer sehingga terbentuk kopoli(eugenol-DVB). Struktur kopoli(eugenol-DVB) yang menyerupai jaring dapat meningkatkan kualitas resin, karena selain

kation yang dipertukarkan dapat terikat secara ionik menggantikan  $H^+$ , kation dengan ukuran yang sesuai dapat juga terjebak dalam jaring.

Oleh karena struktur eugenol mirip dengan struktur turunan stirena yaitu  $\beta$ -metil stirena maka dalam penelitian ini dilakukan reaksi kopolimerisasi kationik (eugenol-DVB) menggunakan katalis  $BF_3O(C_2H_5)_2$ . Sintesis kopoli(eugenol-DVB) sulfonat dilakukan melalui reaksi sulfonasi dengan penambahan  $H_2SO_4$  pekat sebagai reagen dan  $Ag_2SO_4$  sebagai katalis.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan bahan

Seperangkat alat refluks, seperangkat evaporator buchi, alat-alat gelas, spektrofotometer FTIR Shimadzu 8201 PC, viskometer Ostwald, DTA. Eugenol (P.T Indesso Aroma Purwokerto), DVB (E. Merck),  $BF_3O(C_2H_5)_2$  (E. Merck), dietil eter (E. Merck),  $CH_3OH$  (E. Merck),  $Na_2SO_4$  (E. Merck),  $H_2SO_4$  pekat (E. Merck),  $Ag_2SO_4$  (E. Merck),  $CaCl_2$  (E. Merck), akuades (Laboratorium Pusat MIPA, UNS, Surakarta), akuabides (P.A.U. Yogyakarta), Kertas pH, dan glasswool

### Cara kerja

#### Kopolimerisasi kopoli(eugenol-DVB)

Eugenol dimasukkan dalam labu leher tiga dan ditambahkan DVB dengan variasi berat 2%, 4%, 6%, 8%, 10% dan 12% (persen berat eugenol). Selama proses polimerisasi dengan dialiri gas nitrogen pada suhu kamar sambil ditambahkan  $BF_3O(C_2H_5)_2$  Setelah reaksi berlangsung selama 6 jam, polimerisasi dihentikan dengan menambahkan sejumlah metanol. Hasil polimerisasi dilarutkan dalam dietil eter dan dicuci dengan akuades hingga pH netral. Fasa organik dikeringkan dengan  $Na_2SO_4$  anhidrous, dan pelarutnya diuapkan dengan evaporator buchi. Residu dikeringkan dalam desikator, selanjutnya polimer dianalisis dengan spektrofotometer FTIR, DTA dan ditentukan berat molekulnya dengan viskometer Ostwald.

#### Sulfonasi kopoli(eugenol-DVB) sulfonat

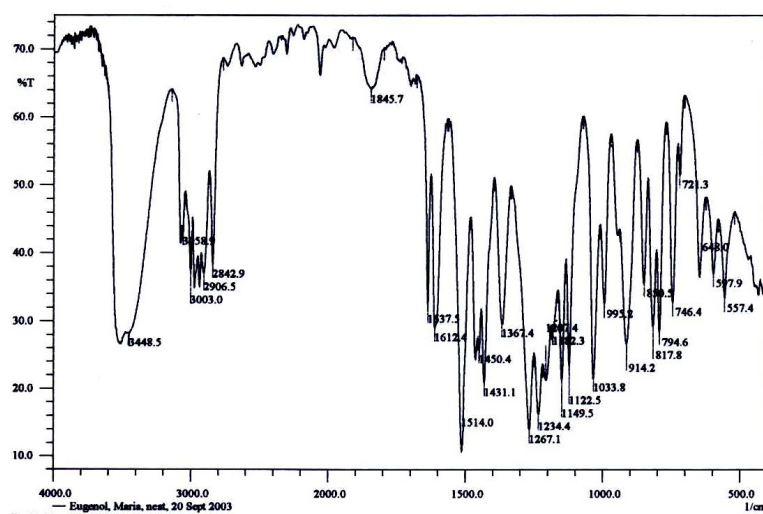
Asam sulfat pekat dimasukkan ke dalam labu leher tiga kemudian ditambahkan sedikit  $Ag_2SO_4$  secara hati-hati hingga larut. Campuran direfluks pada suhu  $90^\circ C$  dalam waterbath kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit kopoli(eugenol-DVB). Campuran tetap dipanaskan dan diaduk selama 3 jam. Ketika reaksi akan berakhir didinginkan

pada suhu kamar, setelah itu ditambahkan  $H_2SO_4$  6 M dalam keadaan dingin. Larutan disaring kemudian dicuci dengan akuades hingga pH netral. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam desikator. Analisis struktur polimer dengan spektrofotometer FTIR dan DTA.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Eugenol sebagai bahan awal yang diperoleh oleh PT. Indesso Aroma Purwokerto berupa larutan tidak berwarna. Analisis eugenol dilakukan dengan Spektrofotometer FTIR untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional karakteristik yang terdapat pada eugenol. Analisis spektrofotometer FTIR memberikan data spektra seperti yang terlihat pada Gambar 1.

Dari Gambar 1 terlihat adanya serapan lebar pada  $3448,5\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus  $-OH$ . Serapan pada daerah  $1300-1000\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus eter ( $-C-O-$ ). Serapan pada  $3100-3000\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi  $Csp^2-H$  dan adanya suatu senyawa aromatis ditunjukkan oleh pita serapan  $1612,4\text{ cm}^{-1}$  dan  $1514,0\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan pita serapan pada  $900-800\text{ cm}^{-1}$  yaitu suatu senyawa aromatis tersubstitusi 1,2,4. Pita serapan pada  $1637,5\text{ cm}^{-1}$  merupakan pita serapan karakteristik untuk rentangan  $C=C$  yang dikuatkan oleh pita serapan keluar bidang pada  $900-650\text{ cm}^{-1}$ . Serapan pada  $995,2\text{ cm}^{-1}$  dan  $914,2\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus tak jenuh berupa gugus vinil ( $-C=CH_2-$ ). Serapan pada  $3000-2800\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi  $Csp^3-H$ . Gugus alkil yaitu metil ( $-CH_3$ ) yang ditunjukkan oleh pita serapan pada  $1367,4\text{ cm}^{-1}$  dan adanya gugus metilena ( $-CH_2-$ ) ditunjukkan oleh serapan pada  $1431,1\text{ cm}^{-1}$ . Berdasarkan analisis yang telah dilakukan dapat



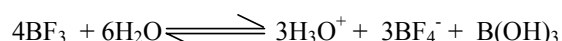
Gambar 1. Spektra infra merah eugenol.

disimpulkan bahwa senyawa mengandung inti aromatis tersubstitusi 1,2,4; eter (-C-O-C-); -OH; metil (-CH<sub>3</sub>) dan metilena (-CH<sub>2</sub>-) serta gugus vinil (-CH=CH<sub>2</sub>).

#### Kopolimerisasi eugenol- divinilbenzena (DVB)

Kopolimerisasi eugenol dalam penelitian ini dilakukan dengan sejumlah tertentu DVB tanpa media pelarut, menggunakan katalis BF<sub>3</sub>O(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> dengan perbandingan mol antara katalis dan monomer eugenol kira-kira 1: 4. Reaksi kopolimerisasi eugenol dengan DVB dilakukan pada variasi berat DVB 2%, 4%, 6%, 8%, 10% dan 12% menggunakan katalis BF<sub>3</sub>O(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> dilakukan pada temperatur kamar ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ) dan reaksi dilakukan dalam atmosfer gas nitrogen. Reaksi mulai berlangsung ditandai dengan berubahnya warna larutan dari jernih menjadi gel merah keunguan. Pada tahap inisiasi ini BF<sub>3</sub> dengan orbital kosongnya dialihkan ke monomer menghasilkan ion karbanium baru. Selanjutnya sistem dibiarkan dan tetap dalam atmosfer gas nitrogen. Penambahan katalis dilakukan bertahap dengan tujuan agar pembentukan inisiator baru terjadi secara berulang-ulang. Tahap ini disebut tahap propagasi.

Tujuan pengaliran gas nitrogen adalah untuk mengusir uap air dan gas-gas lain yang dapat mengganggu polimerisasi. Adanya air atau molekul-molekul pemberi proton lain yang dikhawatirkan dapat mengganggu proses polimerisasi kationik. Selain itu adanya air atau alkohol dalam sistem reaksi, dapat bereaksi dengan inisiator itu sendiri. Adanya air akan menyebabkan reaksi hidrolisis terhadap katalis BF<sub>3</sub>O(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> sehingga katalis tersebut menjadi inaktif (Odiari, 1991). Reaksi BF<sub>3</sub> dengan air akan menghasilkan suatu larutan asam fluoroborat dan BF<sub>3</sub> akan terhidrolisis sebagian dalam air. Reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Reaksi kopolimerisasi berlangsung selama 6 jam, ditandai dengan berubahnya larutan gel merah keunguan. Kopolimerisasi diakhiri (tahap terminasi) dengan menambah sejumlah metanol. Hasil polimerisasi dan kopolimerisasi dapat dilihat dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil kopolimerisasi eugenol-DVB.

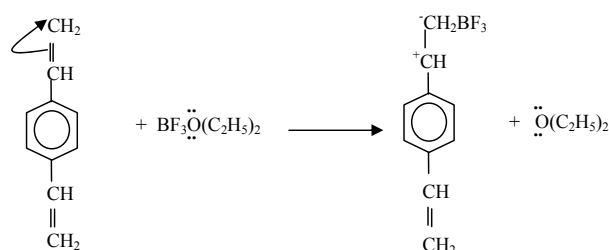
Eugenol (g)	DVB (g) (%)	BF <sub>3</sub> O(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> (mL)	Polimer (g)	Mulai terdegradasi (°C) *
10	0,2 2	2	7,625	53,59
10	0,4 4	2	8,455	47,06
10	0,6 6	2	7,913	43,91
10	0,8 8	2	9,118	64,37
10	1,0 10	2	9,752	69,33
10	1,2 12	2	8,733	65,57

Keterangan: \*) data diambil dari analisis DTA

Analisis hasil kopolimerisasi eugenol dengan DVB 2% menggunakan spektrofotometer FTIR didapatkan spektra yang disajikan pada Gambar 2. Dengan membandingkan spektra, terlihat adanya perbedaan jelas, yaitu hilangnya serapan 1637,5 cm<sup>-1</sup> yang merupakan rentangan gugus C=C (gugus alil), serta hilangnya serapan karakteristik gugus vinil (-CH=CH<sub>2</sub>) pada 995,2 cm<sup>-1</sup> dan 912,3 cm<sup>-1</sup>. Selain itu didukung pula oleh hilangnya serapan-serapan pada 1000-650 cm<sup>-1</sup>, menunjukkan bahwa telah terjadi reaksi kopolimerisasi dan terbentuknya kopoli (eugenol-DVB). Serapan pada 3000-2800 cm<sup>-1</sup> merupakan serapan rentangan Csp<sup>3</sup>-H, gugus metilen (-CH<sub>2</sub>-) ditunjukkan oleh pita serapan pada 1461,9 cm<sup>-1</sup>. Dari analisis spektra IR menunjukkan bahwa telah terjadi kopolimerisasi. Kopolimerisasi dengan prosen DVB yang lain memberikan hasil yang sama untuk analisis dengan spektrofotometer infra merah.

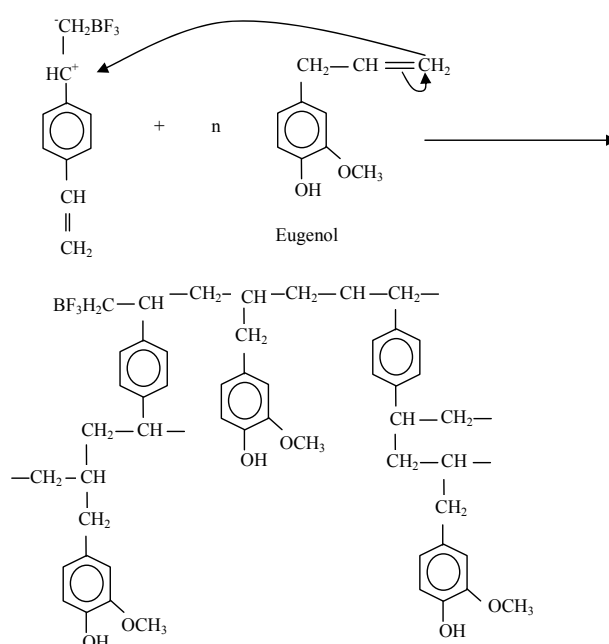
Usulan mekanisme kopolimerisasi eugenol dengan DVB sebagai berikut

#### 1. Tahap inisiasi:

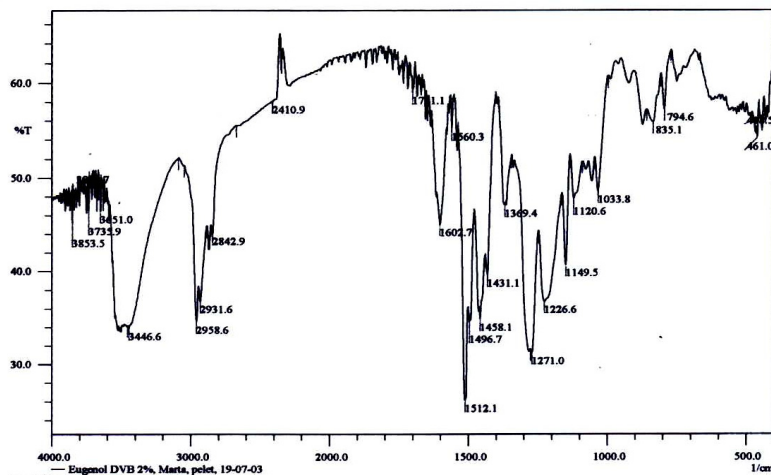


Divinil benzena

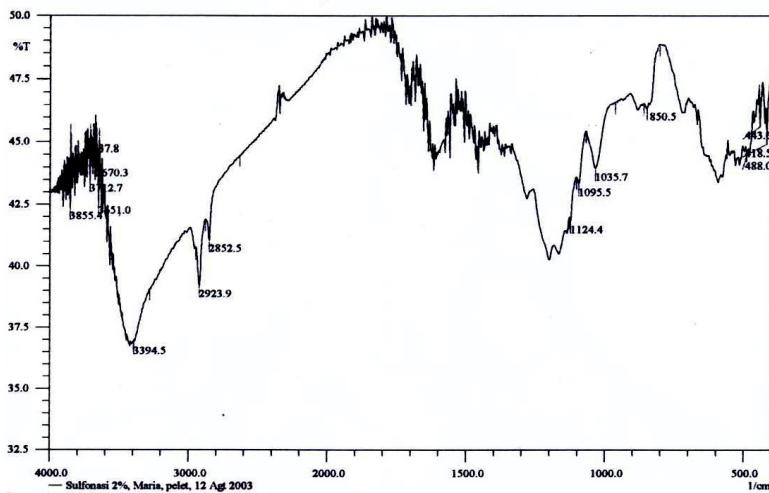
#### 2. Tahap propagasi:



#### 3. Tahap terminasi dengan penambahan metanol



Gambar 2. Spektra infra merah hasil kopolimerisasi eugenol-DVB 2%.



Gambar 3. Spektra infra merah hasil sulfonasi kopolieugenol-DVB 2%.

### Penentuan berat molekul kopoli eugenol-DVB

Penentuan berat molekul polimer dilakukan dengan metode viskometri menggunakan viscometer Ostwald. Dari data waktu alir beberapa konsentrasi larutan kopoli eugenol-DVB dan pelarut murni metanol, dihitung viskositas relatif dan viskositas spesifiknya ( $\eta_{sp}$ ), kemudian dibuat kurva  $\eta_{sp}/C$  lawan  $C$ , untuk masing-masing variasi jumlah mol DVB, maka akan diperoleh persamaan sesuai dengan kurva linier. Intersep setara dengan nilai viskositas intrinsik  $[\eta]$ . Massa molekul relatif dihitung dengan persamaan Mark - Houwink  $[\eta]_i = K M_i^a$ , dimana untuk kopoli eugenol-DVB harga  $k = 11 \times 10^{-3}$  dan  $a = 0,725$ . Hasil Penentuan berat molekul disajikan pada Tabel 2.

### Sintesis kopoli (eugenol sulfonat) - DVB

Kopoli (eugenol-DVB) Sulfonat disintesis melalui reaksi sulfonasi terhadap kopoli eugenol-DVB. Reaksi sulfonasi merupakan reaksi substitusi elektrofilik, yang merupakan reaksi pembentukan gugus  $-SO_3H$  dalam senyawanya. Sulfonasi menggunakan  $H_2SO_4$  pekat akan berjalan lambat, untuk mempercepat reaksi digunakan  $Ag_2SO_4$  sebagai katalis. Hasil sulfonasi kopolieugenol-DVB disajikan pada Tabel 3.

Analisis hasil sulfonasi kopoli eugenol-DVB dengan spektrofotometer infra merah diperoleh spektra seperti pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3 diketahui perbedaan yang jelas antara spektra infra merah kopoli(eugenol-DVB) dengan kopoli(eugenol-DVB) sulfonat yaitu adanya serapan  $1176,5 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1037,6 \text{ cm}^{-1}$  yang merupakan rentangan vibrasi  $S=O$  dari  $-SO_3H$ . Pita serapan di luar bidang pada  $862,1 \text{ cm}^{-1}$  berasal dari vibrasi cincin aromatis tersubstitusi, yang berarti masuknya satu gugus  $-SO_3H$ . Pita serapan  $3423,4 \text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi dari gugus  $-OH$  yang berikatan hidrogen, serapan ini berasal dari dari  $-OH$  yang terikat pada cincin aromatis dan  $-OH$  yang terikat pada  $-SO_2-OH$ . Dari spektra Infra Merah tersebut juga terlihat hilangnya serapan karakteristik vinil ( $-CH=CH_2$ ) pada  $995,2 \text{ cm}^{-1}$  dan  $916,1 \text{ cm}^{-1}$ . Pita serapan  $3000-2800 \text{ cm}^{-1}$  merupakan pita serapan  $Csp^3-H$ , walaupun lemah, adanya gugus metilen ditunjukkan oleh pita serapan  $1458,3 \text{ cm}^{-1}$ . Sulfonasi

terhadap kopolieugenol-DVB pada prosen yang lain memberikan hasil yang sama untuk analisis spektrofotometri infra merah.

Tabel 2. Hasil penentuan berat molekul dengan viskometer Ostwald.

No	Kopoli eugenol - DVB	Berat molekul (g/mol)
1	2%	1142
2	4%	1718
3	6%	1915
4	8%	2417
5	10%	2454
6	12%	2984

**Tabel 3.** Hasil sulfonasi kopolieugenol-DVB.

DVB	Kopoli (eugenol sulfonat) - DVB (g)	Mulai terdegradasi (°C) *
2%	1,513	162,95
4%	1,797	108,39
6%	1,360	210,09
8%	1,704	105,90
10%	1,693	208,84
12%	1,909	95,57

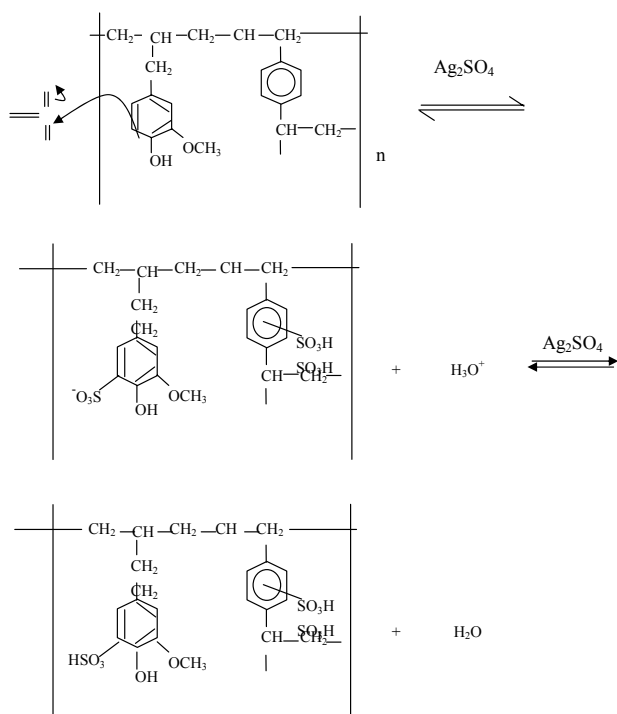
Keterangan: \*) data diambil dari analisis DTA

Reaksi sulfonasi kopoli (eugenol-DVB) dengan pereaksi  $H_2SO_4$  pekat meliputi tahap-tahap sebagai berikut:

Tahap I :



Tahap II:



### KESIMPULAN

Dalam penelitian ini diperoleh bahwa: (i) Variasi jumlah DVB yang ditambahkan pada kopolimerisasi kationik eugenol dengan divinil benzena (DVB) menggunakan katalis  $BF_3O(C_2H_5)_2$

mempengaruhi harga berat molekul rata-rata jumlah ( $M_n$ ) kopolimer yang ditentukan dengan metode viskometri. Kopoli (eugenol-DVB) 12% memberikan nilai ( $M_n$ ) paling besar yaitu 2984 g/mol; (ii) Kopoli(eugenol-DVB) sulfonat dapat disintesis melalui reaksi sulfonasi menggunakan pereaksi  $H_2SO_4$  pekat dan  $Ag_2SO_4$  sebagai katalis menghasilkan produk berupa padatan. Analisis struktur dengan FTIR tampak serapan pada daerah 1176,5  $cm^{-1}$  dan 1037,6  $cm^{-1}$  yang merupakan rentangan vibrasi S=O dari  $-SO_3H$  yang menunjukkan masuknya gugus  $-SO_3H$ .

### DAFTAR PUSTAKA

- Andrea, E.H. and R.P. Pinnel. 1989. Sulfonation of Polystyrene. *Chemical Education* 66: 613-619.
- Anggraini, B. 1998. *Polimerisasi Eugenol dengan Katalis Kompleks  $BF_3$  Dietil Eter dan Pemakaian Eugenol sebagai Katalis Transfer Fasa*. [Skripsi]. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada.
- Atkins, P.W. 1994. *Physical Chemistry*. New York: Oxford University Press.
- Billmeyer, F.W.Jr. 1991. *Textbook of Polymer Science*. 2nd edition. New York: John Wiley and Sons.
- Handayani, D.S. 1999. *Sintesis Poli (Eugenol-Sulfonat) sebagai Katalis Asam dalam Siklisasi Sitronelal*. [Tesis]. Yogyakarta: FMIPA Univeristas Gadjah Mada.
- Handayani, W. 1998. *Polimerisasi Kationik Eugenol dan sifat Pertukaran Kation Poligaramnya*. [Tesis]. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada.
- March, J. 1992. *Advanced Organic Chemistry Reaction, Mechanism and Structure*. 4th edition. Los Angeles: Brooks Publishing Company.
- Odian, 1991. *Principles of Polymerization*. 3rd edition. New York: John Wiley and Sons.
- Rastuti, U. 1998. *Pengaruh Media pada Polieugenol dengan Katalis  $H_2SO_4$  pekat dan Sintesis Polielektrolit*. [Skripsi]. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada.
- Remmp, P. and E.W. Merril. 1991. *Polymer Synthesis*. 2nd Revised Edition. Berlin: Bachel.
- Sastrohamidjojo, H. 1981. *A Study of Some Indonesian Essential Oils*. [Desertasi]. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada.
- Setyowati, L. 1998. *Pengaruh Penambahan Divinil Benzena (DVB) pada Kopolimerisasi Kationik Eugenol-DVB dan Sifat Pertukaran Kation Kopoligaramnya*. [Tesis]. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada.
- Simon, G.P. 1991. *Ion Exchange Training Manual*. London: Chapman and Hall.
- Stevens, M.P. 1975. *Polymer Chemistry An Introduction*. London: Adisson-Wesley Publishing Company Inc.
- Van der Maarel, J.R.C. 1996. Structure and charge distribution in poly(styrene-sulfonat) ion exchange resins. *American Chemical Society* 49: 2039-2045.
- Widodo, M. 1987. *Isomerisasi Metil Eugenol dengan Poli (Etilen Glikol) sebagai Katalis Transfer Fasa*. [Skripsi]. Yogyakarta: FMIPA Universitas Gadjah Mada.

## Sintesis Senyawa Komponen Parfum Etil *p*-Anisat dari Anetol

### *Synthesis of perfume compound etil p-anisat from anethole*

TRIANA KUSUMANINGSIH\*, DESI SUCI HANDAYANI, ANDI MAKRUH

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: triana@mipa.uns.ac.id

Diterima: 4 Juni 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

**Abstract.** Synthesis of ethyl *p*-anisate from anethole has been done. Ethyl *p*-anisate is ester compound which can use as perfume component. *p*-anisic acid was synthesized from anethole (1 mole) which oxidised by  $\text{KMnO}_4$  (3 moles) at  $40^\circ\text{C}$  for 2 hours. Esterification with ethanol carried out at  $78,5^\circ\text{C}$  for 6 hours. Identification and determination structure compound of product synthesis used spectroscopic methods (GC, GC-MS and IR). Anethole has been isolated from anise oil as 90,3%. *p*-Anisic acid and ethyl *p*-anisate as synthesized products got 45% and 79,9% respectively.

**Keywords:** anethole, *p*-anisic acid, esterification, ethyl *p*-anisate.

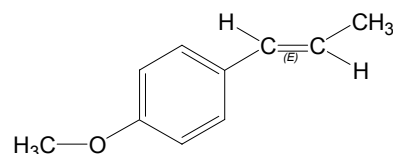
### PENDAHULUAN

Minyak atsiri merupakan salah satu komoditas ekspor non-migas yang memiliki peluang pasar cukup besar untuk menambah pendapatan negara, karena minyak atsiri dibutuhkan dalam berbagai bidang industri. Minyak atsiri yang diekspor dari Indonesia antara lain minyak cengkeh, minyak serih, minyak adas, minyak akar wangi, dan minyak pala. Pada umumnya minyak atsiri diekspor dalam bentuk mentah atau belum diolah, oleh karena itu nilainya masih rendah dan kurang memberikan tambahan pendapatan bagi negara. Peningkatan nilai tambah minyak atsiri dapat dilakukan dengan mengisolasi komponen-komponen utamanya, kemudian mengubah komponen-komponen tersebut menjadi senyawa derivatnya yang lebih bermanfaat.

Minyak adas (*Phoeniculum Vulgare L.*) merupakan salah satu minyak atsiri yang terdapat di Indonesia, diperoleh dengan cara penyulingan uap biji adas. Minyak adas digunakan sebagai zat aditif dalam berbagai jenis makanan, roti, kembang gula, serta dalam industri farmasi dan kosmetik (Guenther, 1948). Penduduk Indonesia memanfaatkan biji adas sebagai pengharum masakan dan simplisia jamu.

Senyawa komponen minyak adas dapat diketahui dengan melakukan isolasi dan identifikasi minyak adas (Guenther, 1948). Wijisekera (1973) telah melakukan identifikasi minyak adas dari Srilanka, sedangkan Ashraf (1975) mempelajari minyak adas dari Pakistan. Anwar (1985) telah melakukan penelitian tentang isolasi minyak adas dari buah *Phoeniculum Vulgare L* dan identifikasi komponen utamanya.

Salah satu komponen utama minyak adas adalah anetol dengan struktur seperti pada Gambar 1 (Budavari, 1989):



**Gambar 1.** Struktur senyawa anetol

Brown (1982) telah melakukan oksidasi terhadap beberapa alkena terminal dengan oksidator  $\text{KMnO}_4$  menggunakan katalis transfer fasa adogen 464. Salah satu model senyawa yang digunakan adalah stirena, yaitu senyawa yang terdiri atas cincin aromatis dan gugus vinil. Oksidasi stirena dengan prosedur ini menghasilkan asam benzoat dengan rendemen sebesar 76%.

Anetol mempunyai struktur yang mirip dengan stirena, yaitu adanya ikatan rangkap dua yang terkonjugasi dengan cincin aromatik, dan mempunyai atom hidrogen yang terikat pada karbon  $\text{sp}^2(\text{Csp}^2)$ . Hasil oksidasi anetol yang diharapkan adalah aldehida dan asam karboksilat.

Usaha untuk meningkatkan pemanfaatan minyak adas dapat dilakukan dengan mengkonversi anetol menjadi derivat-derivatnya. Kusumaningsih (2000) telah melakukan derivatisasi anetol menjadi *p*-anisaldehid, asam *p*-anisat, metil *p*-anisat dan *p*-anisil alkohol. Firdaus (2002) juga telah melakukan derivatisasi

anetol menjadi etil *p*-metoksisinamat melalui pembentukan *p*-anisaldehid.

Pada penelitian ini dilakukan derivatisasi anetol, yakni esterifikasi terhadap asam *p*-anisat hasil oksidasi anetol menggunakan etanol. Produk yang diharapkan berupa senyawa ester, yaitu etil *p*-anisat. Sebagai senyawa ester, diharapkan etil *p*-anisat berguna sebagai komponen parfum (Poucher, 1974).

## BAHAN DAN METODE

### *Bahan dan bahan*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak adas perdagangan (Schimmel Rect-DAB), akuades, asam asetat glasial pa (E-Merck), asam sulfat pekat pa (E-Merck), polisorbat 80 pa (E-Merck), diklorometana pa (E-Merck), kalium permanganat (KMnO<sub>4</sub>) pa (E-Merck), natrium bisulfit (NaHSO<sub>3</sub>) 39% pa (E-Merck), natrium sulfat anhidrous (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pa (E-Merck), etanol pa (E-Merck), propanol pa (E-Merck), dietil eter pa (E-Merck), natrium bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) pa (E-Merck), magnesium sulfat (MgSO<sub>4</sub>) pa (E-Merck), dan es batu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi satu set alat refluks, satu set alat Rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-114), *hot plate*, timbangan digital, kromatografi Gas (GC, Hewlett Packard 5890 series II), spektrometer GC-MS (GC-MS, Shimadzu QP-5000), spektrometer Inframerah (IR, Shimadzu FTIR-8201 PC, peralatan gelas lainnya yang biasa dipakai di Laboratorium Kimia UNS Surakarta.

### *Cara kerja*

#### **Sintesis asam *p*-anisat dari anetol**

Ke dalam labu leher tiga 500 ml dimasukkan 3,048 g (0,02 mol) anetol, 100 ml akuades, 2 ml asam asetat glasial, 15 ml asam sulfat pekat 50%, 0,1 g polisorbat 80 dan 100 ml diklorometan. Sambil diaduk, ditambahkan 9,798 g (0,062 mol) kristal KMnO<sub>4</sub> sedikit demi sedikit dalam campuran dan temperatur dijaga agar tidak lebih dari 30°C, kemudian direfluks selama 2 jam pada temperatur 40 °C, yakni titik didih diklorometana. Larutan diuji dengan kertas pH dan jika belum asam dapat diasamkan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50% sampai pH = 1-2. Selanjutnya labu didinginkan dan ditambahkan 3 g NaHSO<sub>3</sub> sedikit demi sedikit. Campuran diekstrak dengan diklorometan dan dikeringkan dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrous, kemudian diklorometan dievaporasi dan diperoleh kristal putih kekuningan, yang selanjutnya direkristalisasi menggunakan etanol. Analisis struktur asam *p*-anisat dilakukan dengan GC-MS dan IR.

#### **Sintesis etil *p*-anisat**

Ke dalam labu leher tiga 250 ml dimasukkan 1,00 g (0,007 mol) asam *p*-anisat, 14,398 g

(0,313 mol) etanol dan 0,5 g asam sulfat pekat. Campuran direfluks pada suhu 78,5°C selama 6 jam. Selanjutnya campuran didinginkan dan kelebihan etanol dievaporasi. Residu diekstrak dengan 20 ml akuades dan 20 ml dietileter. Lapisan dietileter hasil ekstraksi ditambah larutan NaHCO<sub>3</sub> pekat, kemudian dicuci dengan akuades dan dikeringkan dengan MgSO<sub>4</sub> anhidrous. Pelarut dievaporasi dengan rotary evaporator sehingga diperoleh etil *p*-anisat murni. Analisis struktur etil *p*-anisat dilakukan dengan GC-MS dan IR.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

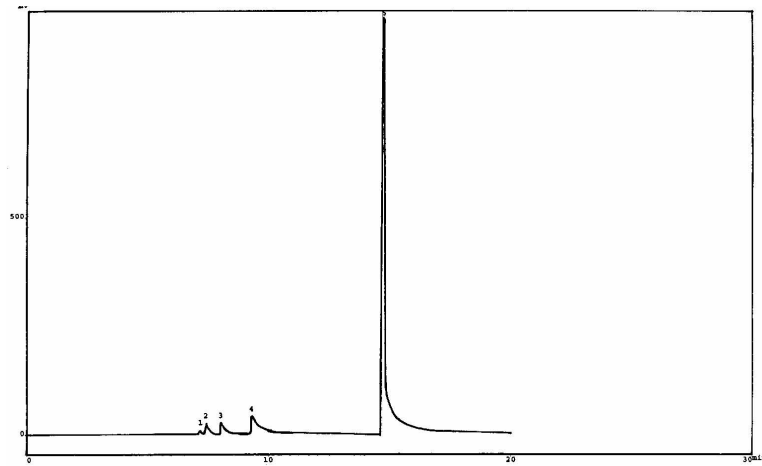
### *Identifikasi anetol dalam minyak adas*

Minyak adas yang digunakan adalah minyak adas perdagangan dengan merk Schimmel Rect DAB. Minyak adas berupa cairan bening tak berwarna dengan bau khas "minyak telon". Untuk mengetahui adanya kandungan anetol dalam minyak adas dilakukan analisis menggunakan instrumen GC, GC-MS dan spektrometer Inframerah.

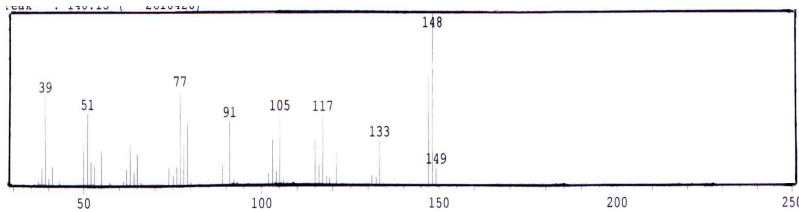
Analisis menggunakan kromatografi gas (GC) diperoleh kromatogram seperti pada Gambar 2. Kromatogram minyak adas pada Gambar 2 tersebut menunjukkan bahwa minyak adas perdagangan Schimmel Rect-DAB mengandung lima komponen senyawa. Komponen ke-1 (0,4898%) pada waktu retensi 7,230 menit, komponen ke-2 (1,2972%) pada waktu retensi 7,449 menit, komponen ke-3 (2,0988%) pada waktu retensi 8,605 menit, komponen ke-4 (5,7961%) pada waktu retensi 9,325 menit dan komponen ke-5 (90,3183%) pada waktu retensi 14,775 menit. Komponen ke-5 pada waktu retensi 7,230 menit 14,775 merupakan komponen terbesar dengan konsentrasi relatif 90,3183% diduga adalah anetol.

Analisis dengan instrumen GC-MS menghasilkan spektra massa untuk komponen ke-5 sebagaimana tertera pada Gambar 3. Spektra massa pada Gambar 3 mempunyai nilai *SI*=90 terhadap spektra massa untuk anetol dan memiliki bobot molekul 148 sebagaimana bobot molekul dari anetol. Puncak dasar dengan *m/z*=148 merupakan puncak dasar yang khas untuk anetol, karena struktur anetol terstabilkan oleh resonansi. Pecahan dengan *m/z*=117 dihasilkan dari lepasnya radikal H dan O=CH<sub>2</sub>. Fragmentasi anetol adalah seperti pada Gambar 4 dan 5. Analisis terhadap anetol menggunakan spektrofotometer inframerah didapatkan spektra seperti Gambar 6.

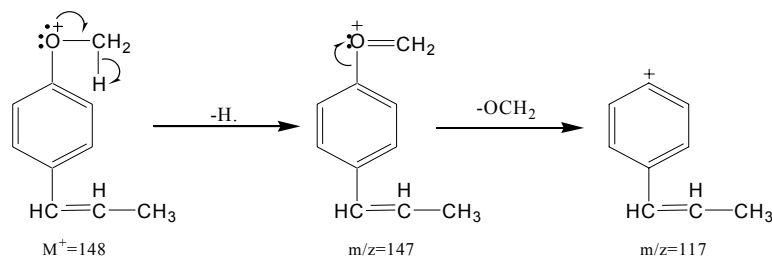
Spektra IR anetol menunjukkan adanya pita serapan di atas 3000 cm<sup>-1</sup> dan serapan pada 1608 cm<sup>-1</sup>, 1577,7 cm<sup>-1</sup>, 1510,2 cm<sup>-1</sup> dan 1460 cm<sup>-1</sup> yang serapan-serapan tersebut merupakan serapan karakteristik untuk senyawa aromatis. Serapan pada 839 cm<sup>-1</sup> mengindikasikan bahwa



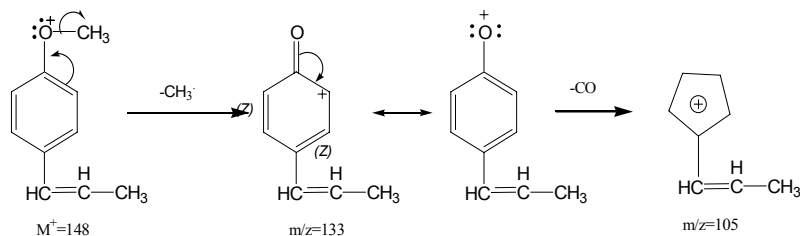
**Gambar 2.** Kromatogram minyak adas.



**Gambar 3.** Spektra massa komponen ke-5



**Gambar 4.** Fragmentasi anetol.



**Gambar 5.** Fragmentasi anetol.

senyawa aromatis tersebut tersubstitusi para. Serapan pada  $2958,6\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ulur C-H  $\text{sp}^3$  sedang serapan pada  $2835,2\text{ cm}^{-1}$

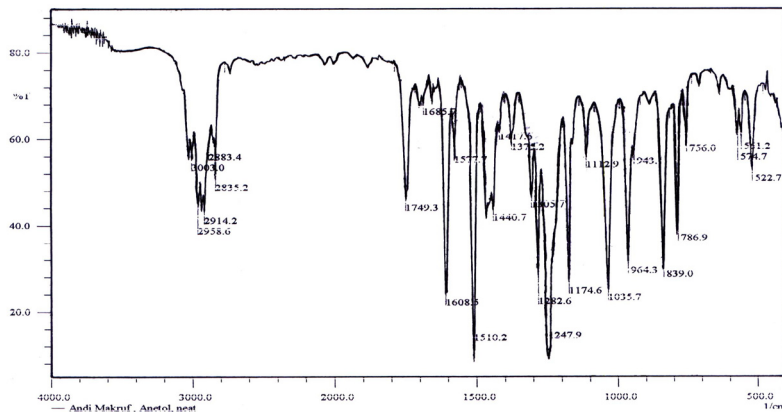
merupakan serapan gugus  $\text{CH}_3$  yang berikatan dengan atom O ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ). Serapan di atas  $3000\text{ cm}^{-1}$  dan pada  $965\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus C=C yang terdisubstitusi pada posisi trans. Jadi senyawa mengandung inti aromatis yang terdisubstitusi pada posisi para, ada gugus C-O,  $\text{-CH}_3$  dan gugus C=C terdisubstitusi pada posisi trans.

Hasil analisis menggunakan instrumen GC, GC-MS dan IR terhadap minyak adas perdagangan Schimmel Rect DAB menunjukkan bahwa komponen utama pada waktu retensi 14,775 menit dengan konsentrasi relatif 90,3183% adalah anetol. Senyawa ini selanjutnya digunakan sebagai bahan awal sintesis asam *p*-anisat.

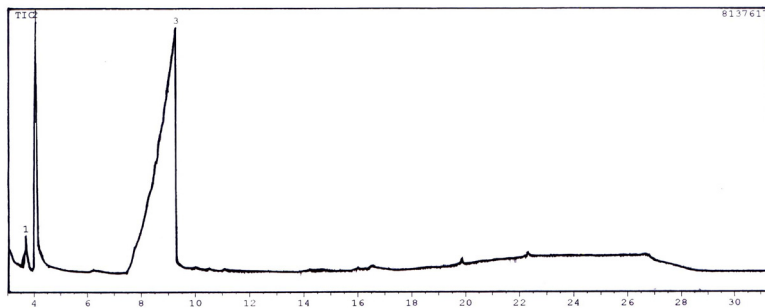
#### Sintesis asam *p*-anisat dari anetol

Sintesis asam *p*-anisat dilakukan dengan mengoksidasi anetol dengan kalium permanganat. Penggunaan polisorbitat 80 (Tween 80) sebagai katalis transfer fasa diperlukan karena anetol larut dalam diklorometana sedangkan kalium permanganat larut dalam air.

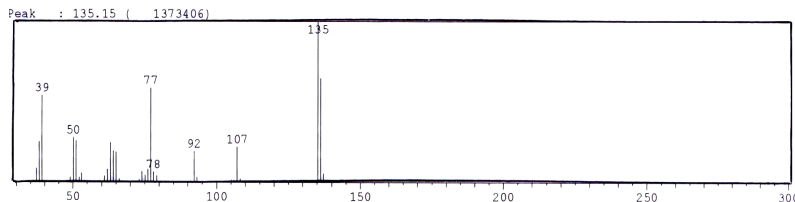
Hasil analisis menggunakan spektrometer GC-MS menunjukkan bahwa oksidasi anetol menghasilkan 3 senyawa sebagaimana ditunjukkan oleh Gambar 7. Senyawa 1 pada waktu retensi 3,683 menit dengan konsentrasi relatif 4,51% merupakan produk oksidasi yang tidak diharapkan dan sukar diidentifikasi. Senyawa 2 pada waktu retensi 4,608 menit dengan konsentrasi relatif 41,67% memiliki spektra massa pada Gambar 8. Pola fragmentasi dari spektra massa pada Gambar 8 bersesuaian dengan pola fragmentasi dari *p*-anisaldehid dimana indek kemiripannya adalah 93. Nilai  $m/z=135$  merupakan puncak dasar *p*-anisaldehid yang terstabilkan oleh resonansi. Fragmentasi *p*-anisaldehid adalah seperti pada Gambar 9. Senyawa 3 pada waktu retensi 9,308 menit dengan konsentrasi relatif 53,82% memiliki spektra massa seperti pada Gambar 10. Pola fragmentasi dari spektra massa



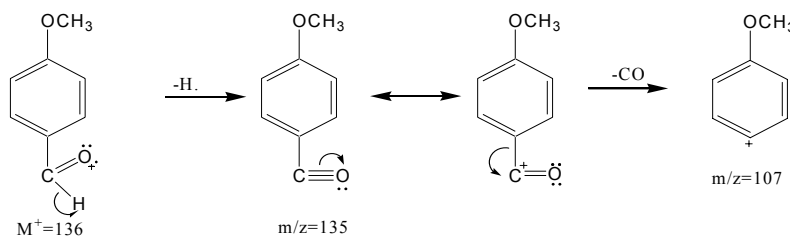
**Gambar 6.** Spektra IR anetol.



**Gambar 7.** Kromatogram produk oksidasi anetol.



**Gambar 8.** Spektra massa senyawa 2 produk oksidasi anetol.



**Gambar 9.** Fragmentasi *p*-anisaldehid.

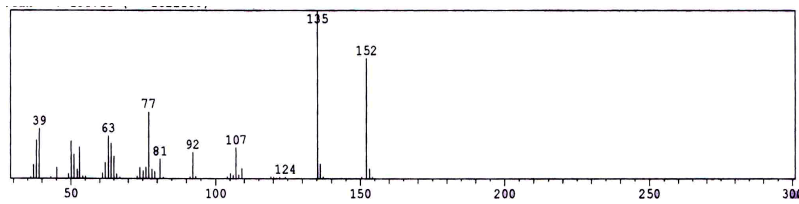
pada Gambar 10 mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi dari asam *p*-anisat. Nilai indeks kemiripannya adalah 90. Fragmentasi asam *p*-anisat ditunjukkan pada Gambar 11.

Kristal asam *p*-anisat yang masih ada pengotornya, kemudian dimurnikan dengan cara rekristalisasi menggunakan etanol. Analisis asam *p*-anisat menggunakan spektrometer inframerah diperoleh spektra seperti pada Gambar 12. Spektra inframerah Gambar 12 menunjukkan adanya serapan lebar antara 3300-2500  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan serapan khas dari vibrasi ulur O-H dari asam karboksilat yang membentuk ikatan hidrogen. Kemudian serapan kuat pada 1685,7  $\text{cm}^{-1}$  merupakan serapan khas ulur C=O dari gugus karboksil yang terkonjugasi dengan senyawa aromatik.

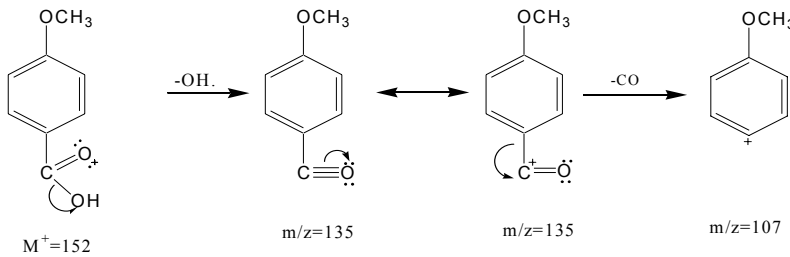
Dibandingkan dengan spektra IR dari anetol (Gambar 2.), tampak bahwa serapan pada 964  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan serapan vibrasi tekuk =C-H keluar bidang untuk trans anetol hilang. Adanya serapan lebar pada 3300-2500  $\text{cm}^{-1}$  merupakan serapan ulur O-H berikatan hidrogen, serta muncul serapan pada 1685,7  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan serapan ulur C=O terkonjugasi dengan gugus aromatis. Jadi gugus propenil pada anetol telah berubah menjadi gugus karboksil. Jadi dapat disimpulkan bahwa produk oksidasi anetol adalah asam *p*-anisat.

#### Sintesis etil *p*-anisat

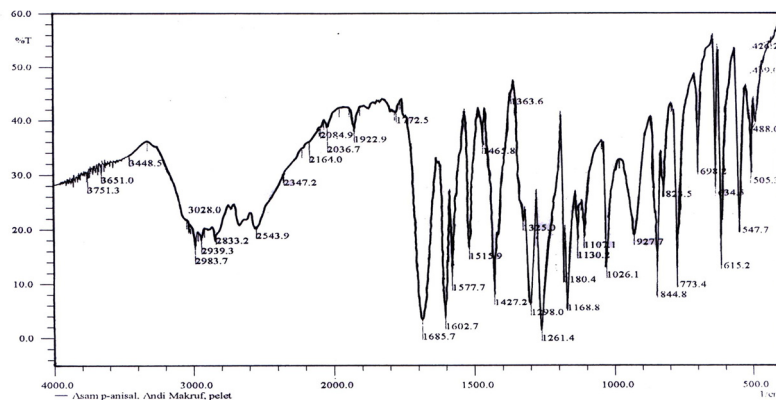
Sintesis etil *p*-anisat dilakukan dengan mereaksikan asam *p*-anisat hasil oksidasi anetol yang berbentuk padatan putih dengan etanol dan asam sulfat pekat. Asam sulfat pekat berfungsi sebagai katalis asam. Produk sintesis berupa cairan berwarna kuning dengan bau yang cukup wangi. Rendemen yang diperoleh sebesar 79,9%. Analisis produk esterifikasi asam *p*-anisat menggunakan spektrometer GC-MS didapatkan kromatogram dan spektra massa seperti pada Gambar 13 dan 14. Analisis dengan instrumen GC-MS menunjukkan bahwa pada waktu retensi 12,840 adalah senyawa etil *p*-anisat dengan konsentrasi 100%. Pecahan dengan  $m/z=135$  merupakan puncak dasar yang dihasilkan dari terlepasnya radikal  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  dari



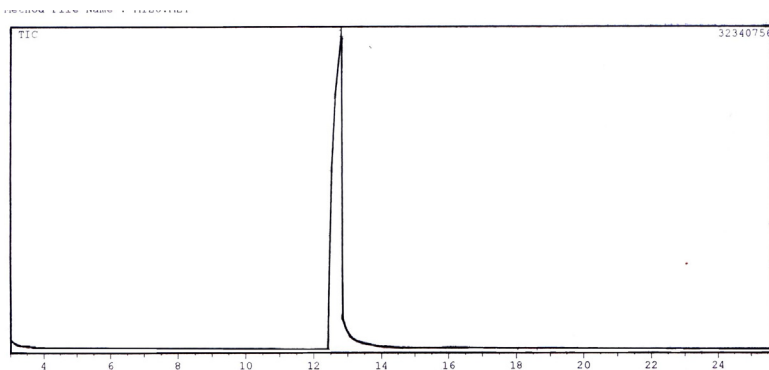
**Gambar 10.** Spektra massa senyawa 3 produk oksidasi anetol.



**Gambar 11.** Fragmentasi asam *p*-anisat.



**Gambar 12.** Spektra IR asam *p*-anisat.



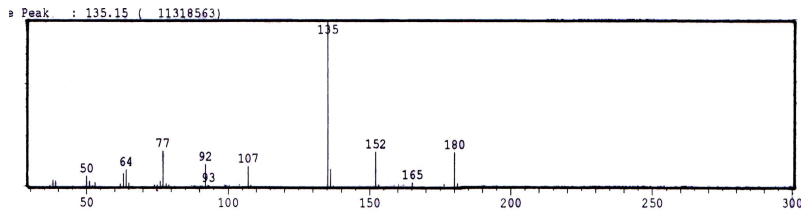
**Gambar 13.** Kromatogram Hasil esterifikasi asam *p*-anisat dengan etanol.

molekul induk, yang terstabilkan oleh resonansi. Fragmentasi senyawa etil *p*-anisat adalah seperti pada Gambar 15. Analisis etil *p*-anisat dengan menggunakan spektrofotometer IR diperoleh spektra seperti pada Gambar 16.

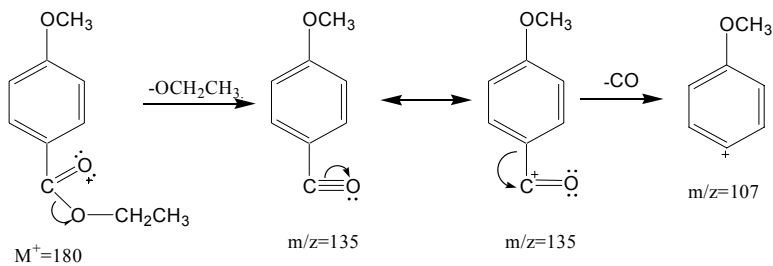
Analisis spektra IR etil *p*-anisat pada Gambar 16 menunjukkan bahwa pita sangat kuat pada  $1708,8 \text{ cm}^{-1}$  adalah karakteristik gugus karbonil, dan diperkuat pita tajam pada  $1257,5 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1168,8 \text{ cm}^{-1}$  disebabkan sistem CO-O-C menunjukkan adalah ester. Pita pada daerah sekitar  $3000 \text{ cm}^{-1}$  dan didukung serapan pada  $1608,5 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1512,1 \text{ cm}^{-1}$  menyatakan bahwa ini adalah senyawa aromatis. Serapan kuat pada  $848,6 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan bahwa senyawa aromatis ini tersubstitusi para. Pita pada daerah sekitar  $2841 \text{ cm}^{-1}$  dan  $2981,7 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus metilen dan metil dan dikuatkan oleh pita-pita pada  $1436 \text{ cm}^{-1}$ . Jadi senyawa yang dianalisis mengandung inti aromatic, kemungkinan tersubstitusi para mengandung gugus -CO-O-C, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-. Analisis terhadap produk esterifikasi asam *p*-anisat pada percobaan ini dengan menggunakan instrumen IR dan GC-MS disimpulkan adalah etil *p*-anisat.

## KESIMPULAN DAN SARAN

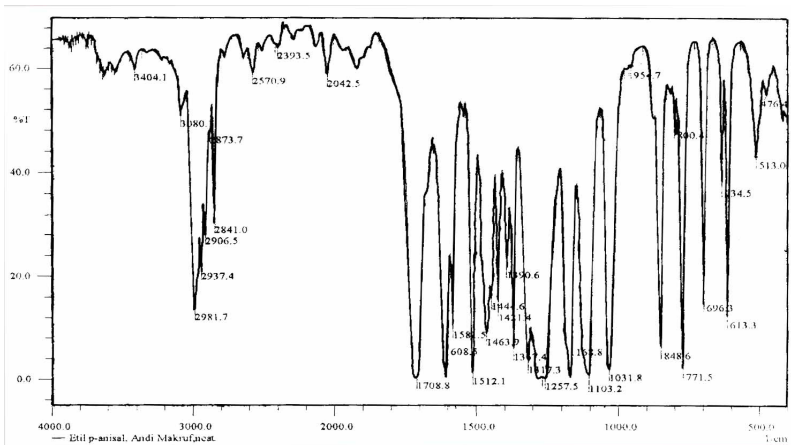
Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disajikan sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa sintesis etil *p*-anisat melalui esterifikasi asam *p*-anisat diperoleh produk sintesis dengan rendemen 79,86%. Perlu dilakukan kajian lebih lanjut terhadap reaksi esterifikasi asam *p*-anisat dengan senyawa alkohol yang lain agar diperoleh produk ester yang lebih bermanfaat.



Gambar 14. Spektra massa etil p-anisat.



Gambar 15. Fragmentasi etil p-anisat.



Gambar 16. Spektra IR etil p-anisat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, C. 1985. *Isolasi Minyak Adas dari Buah **Phoeniculum vulgare L** dan Identifikasi Komponen Utama*. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Ashraf, M. and M.K. Bhatti. 1975. Studies on the essentials oils of Pakistan species of the family Umbeliferae, part II **Phoeniculum vulgare L** (fennel) seed oil. *Journal of Sci. Indian Research* 18:5
- Brown, K.C. and V.S. Chang. 1982. The oxidation of the terminal alkenes by permanganate. *Journal of Chemical Education* 8: 696-697.
- Budavari, S. 1989. *The Merck Index, An Encyclopedia Of Chemical, Drugs And Biological*. 11th edition. New Jersey: Merck And Co. Inc.
- Firdaus, M. 2002. *Sintesis Etil p-Metoksisinamat dari Anetol*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Guenther, E. 1948. *Minyak Atsiri*. Jilid II. Penerjemah: Ketaren, S. Jakarta: UI Press.
- Kusumaningsih, T. 2000. Derivatisasi anetol hasil isolasi minyak adas. *Teknosains*. 13: 247-261.
- Poucher, W.A. 1974. *Perfumes, Cosmetics And Soap*. 7th edition. Volume 1. London: Chapman and Hall.
- Wijsekera, R.O.B and L.S. Rajapakse. 1973. The chemical constituents of essential oil fennel grown in Srilanka. *Annual Session 2, Proceedings Institute of Chemistry, Ceylon*, 37-40.

## Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*)

### *Synthesis of chitosan from chitin of escargot (Achatina fulica)*

TRIANA KUSUMANINGSIH\*, ABU MASYKUR, USMAN ARIEF

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: triana@mipa.uns.ac.id

Diterima: 4 Mei 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

**Abstract.** Chitosan has been made from chitin that was deacetylated from escargot (*Achatina fulica*). The purification of chitin was done by deproteination, demineralization, and depigmentation. Identification of chitin and chitosan was done by FTIR (Fourier Transform Infrared) and XRD (X-Ray Diffraction). Characterization of chitosan was determined by water and mineral content, molecular weight, polymerization degree and degree of deacetylation. The result of research was obtained chitosan 6,95%, crystal, white brownish color, odorless, 3,26±0,45% water content, 10,11±0,38% mineral content, 889,78 molecular weight average with degree of polymerization 5 and degree of deacetylation 74,78-77,99%.

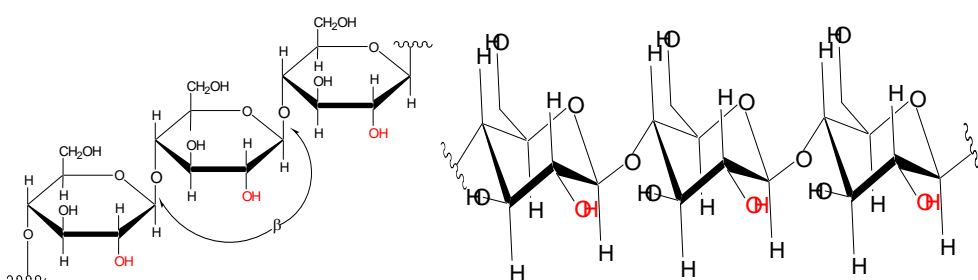
**Keywords:** *Achatina fulica*, chitin, chitosan, deacetylation.

### PENDAHULUAN

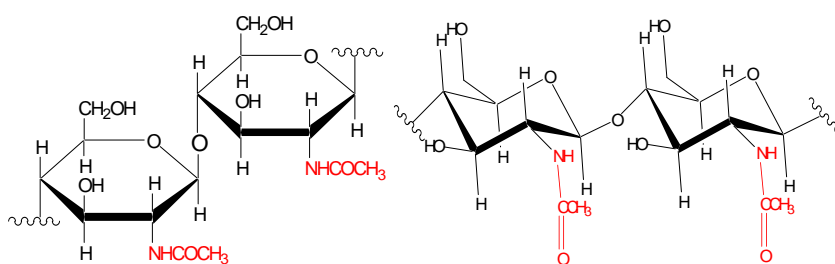
Kitin merupakan bahan organik utama terdapat pada kelompok hewan crustaceae, insekta, fungi, mollusca dan arthropoda. Cangkang kepiting, udang dan lobster telah lama diketahui sebagai sumber bahan dasar produksi kitin, karena kandungan kitinnya cukup tinggi. Cangkang kering arthropoda rata-rata mengandung 20-50% kitin (Suhardi, 1993). Kitin juga diketahui terdapat pada kulit siput, kepiting,

kerang, dan bekicot (Stephen, 1995).

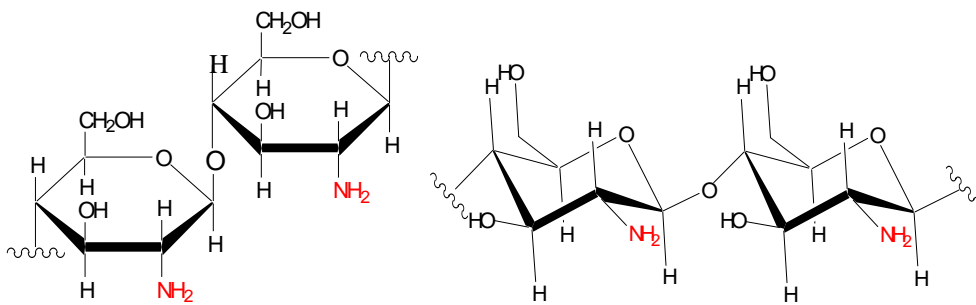
Kitin merupakan biopolimer alam paling melimpah kedua setelah selulosa. Senyawa kitin atau ( $\alpha(1-4)$ -N-asetil-D-glukosamin) dapat dipertimbangkan sebagai suatu senyawa turunan selulosa, dimana gugus hidroksil pada atom C-2 digantikan oleh gugus asetamido (Pujiastuti, 2001). Hasil penelitian Aniek (2000), menyatakan bahwa kitin juga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ikan dan terbukti dapat memacu pertumbuhan ikan. Struktur selulosa dan struktur



Gambar 1. Struktur selulosa



Gambar 2. Struktur kitin



Gambar 3. Struktur kitosan.

kitin diperlihatkan pada Gambar 1 dan 2.

Kitin yang telah dihilangkan gugus asetilnya melalui proses deasetilasi disebut kitosan. Kitosan (2-asetamida-deoksi- $\alpha$ -D-glukosa) memiliki gugus amina bebas yang membuat polimer ini bersifat polikationik, sehingga polimer ini potensial untuk diaplikasikan dalam pengolahan limbah, obat-obatan, pengolahan makanan dan bioteknologi (Savant dkk., 2000). Kitosan tidak larut dalam pelarut alkali karena adanya gugus amina (Kim dkk, 2000). Struktur kitosan diperlihatkan pada Gambar 3.

Biopolimer alam yang tidak beracun ini diproduksi secara komersial dari limbah kulit udang dan kepiting (No dkk., 2000). Penelitian tentang kitosan telah banyak dilakukan. Salami (1998) telah mempelajari metode isolasi kitin dan ekstraksi kitosan dari bahan kulit udang (*Phenax monodon*). Pemanfaatan kitin dan kitosan telah banyak dipelajari oleh beberapa peneliti yaitu: Mahatmanti (2001) mempelajari pemanfaatan kitosan dan kitosan sulfat dari cangkang udang windu untuk bahan adsorben logam Zn (II) dan Pb (II); Darjito (2001) mempelajari adsorpsi kitosan sulfat untuk logam Co (II) dan Cu (II). Bahan lain yang bisa digunakan untuk mendapatkan kitin adalah cangkang bekicot. Bekicot di Indonesia telah dibudidayakan sebagai sumber protein dan menjadi komoditas ekspor. Ekspor bekicot pada tahun 1983 baru mencapai 245.359 kg, sedangkan pada tahun 1987 naik sekitar tujuh kali lipat menjadi 1.490.296 kg (Santoso, 1989). Peningkatan perdagangan ini menyebabkan timbulnya limbah cangkang bekicot dalam jumlah yang cukup besar. Berdasarkan hal diatas maka dalam penelitian ini dilakukan pembuatan kitosan dari kitin cangkang bekicot.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cangkang bekicot dari Kecamatan Minggiran, Kabupaten Kediri, NaOCl p.a. Merck, asam asetat p.a. Merck, NaOH p.a. Merck, HCl p.a. Merck, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat p.a. Merck, dan akuades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan ASTM Standar TEST SIEVE 50 mesh, penggoyang ayakan MBT SIEVE SHAKER AG-515 RPM 500, seperangkat alat gelas pyrek, stirer hot plate model 4658 (Cole Parmer Instrument Company), thermolyne furnace 48000, neraca analitis satorius, pH meter (Corning 430), viskometer kapiler Ostwald, FTIR (*Fourier Transform Infrared*) 8201 PC, XRD (*X-Ray Diffraction*).

### Cara kerja

#### Pemurnian kitin

Pemurnian kitin dilakukan dengan menggunakan metode Hong (Salami, 1998) dengan cara sebagai berikut:

*Persiapan.* Cangkang bekicot dicuci dengan air hingga bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Cangkang yang telah bersih dihaluskan untuk mendapatkan ukuran sebesar 50 mesh.

*Deproteinasi.* Ke dalam labu alas bulat 250 ml yang berisi serbuk cangkang bekicot ditambahkan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 10:1 (v/b), kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan pengaduk magnetik selama 2 jam pada temperatur 65°C. Setelah dingin, disaring dan dinetralkan dengan akuades. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam oven 60°C hingga kering.

*Demineralisasi.* Serbuk cangkang bekicot hasil deproteinasi ditambah larutan HCl 1 N dengan perbandingan 15:1 (v/b) dalam labu alas bulat 500 ml dan direfluks pada suhu 40°C selama 30 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin, disaring dan padatan dinetralkan dengan akuades, kemudian dikeringkan dalam oven 60°C.

*Depigmentasi.* Larutan NaOCl 0,315% ditambahkan kedalam serbuk hasil demineralisasi dengan perbandingan 10:1 (v/b) dalam labu alas bulat 250 ml. Refluks dilakukan selama 1 jam pada suhu 40°C, kemudian padatan disaring dan dinetralkan dengan akuades. Padatan hasil penetralkan dikeringkan pada oven pada suhu 80°C sampai berat tetap. Kitin yang diperoleh diidentifikasi menggunakan instrumen spektrofotometer inframerah.

### Pembuatan kitosan

Pembuatan kitosan dilakukan melalui proses deasetilasi kitin dengan menggunakan metode Knorr (Salami, 1998) yaitu dengan menambahkan NaOH 60% dengan perbandingan 20:1 (v/b) dan merefluksnya pada suhu 100-140°C selama 1 jam. Setelah dingin disaring dan padatan yang diperoleh dinetralkan dengan akuades. Padatan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam dan kitosan siap dianalisis. Kitosan diidentifikasi dengan menggunakan instrumen spektrofotometer inframerah dan difraksi sinar x.

### Karakterisasi kitosan

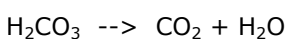
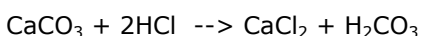
Karakterisasi kitosan meliputi penentuan derajat deasetilasi, kadar air, kadar mineral, dan berat molekul, dengan uraian sebagai berikut: *Derajat deasetilasi.* Spektrum infra merah digunakan untuk penentuan derajat deasetilasi kitosan yang terbentuk. Frekuensi yang digunakan berkisar antara 4000 cm<sup>-1</sup> sampai dengan 400 cm<sup>-1</sup>. Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan metode *base line* yang ditentukan Domszy dan Robert serta Baxter (Khan dkk., 2002). *Kadar air.* Kadar air dihitung dengan mengukur pengurangan berat sampel sebelum dan setelah pemanasan. Sejumlah sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam, kemudian dikeringkan dalam desikator. *Kadar mineral.* Kadar mineral dihitung dengan memasukan sampel kitosan kedalam cawan porselin yang sebelumnya telah ditimbang beratnya, selanjutnya diabukan pada suhu 900°C dalam tanur selama 3 jam. Cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang. *Berat molekul.* Berat molekul dihitung dengan mengukur viskositas larutan kitosan menggunakan viskometer Ostwald.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pemurnian kitin

Pemurnian kitin dilakukan dengan menggunakan metode Hong (Salami, 1998), meliputi deproteinasi, demineralisasi dan depigmetasi. Tahap deproteinasi dilakukan dengan menambahkan NaOH encer. Protein ini akan larut dengan adanya NaOH.

Pada tahap demineralisasi, mineral yang terkandung dalam sampel akan bereaksi dengan HCl. Contoh reaksi yang terjadi dalam kalsium menurut Salami (1998) adalah sebagai berikut:

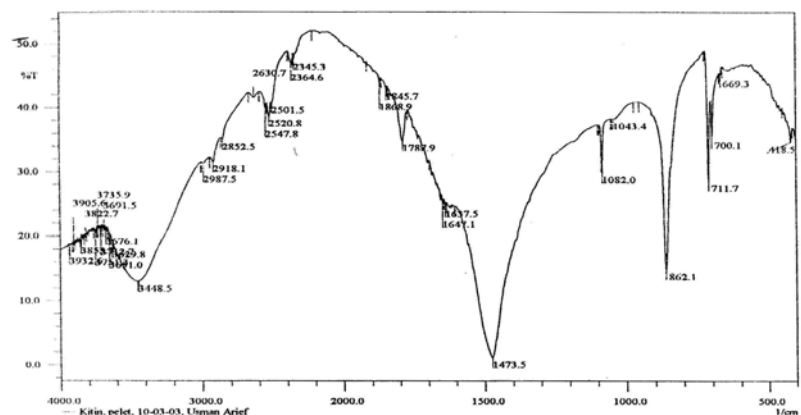


Timbulnya gelembung gas CO<sub>2</sub> merupakan indikator adanya reaksi HCl dengan garam mineral yang terdapat dalam cangkang bekicot.

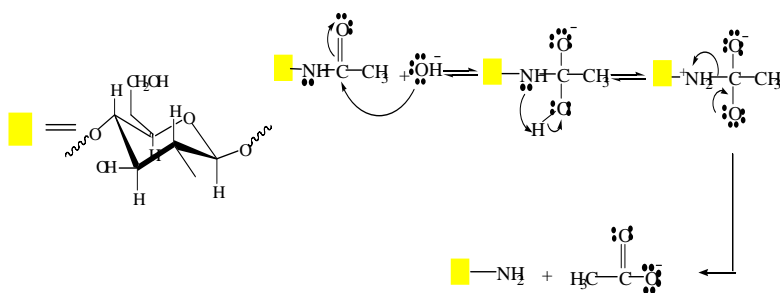
Identifikasi dengan spektroskopi infra merah digunakan untuk mengetahui gugus fungsi kitin yang terdapat pada rendemen. Spektra FTIR kitin diperlihatkan pada Gambar 4. Bilangan gelombang 3448,5 cm<sup>-1</sup> sebagai akibat vibrasi ulur gugus -OH. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1082,0 cm<sup>-1</sup> dan 1043,4 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi ulur gugus -C-O-. Serapan pada bilangan gelombang 2987,5 cm<sup>-1</sup>, 2918,1 cm<sup>-1</sup> dan 2852,5 cm<sup>-1</sup> muncul disebabkan oleh vibrasi ulur gugus C-H dari alkana (Silverstein dkk, 1981). Serapan uluran gugus -CH<sub>3</sub> dan -CH<sub>2</sub>- terletak didaerah 2960-2850 cm<sup>-1</sup>, sehingga pita yang terdapat pada bilangan gelombang 2918,1 cm<sup>-1</sup> dan 2852,5 cm<sup>-1</sup> menunjukkan serapan uluran gugus -CH<sub>3</sub> dan -CH<sub>2</sub>-. Keberadaan gugus -CH<sub>3</sub> yang terikat pada amida (-NHCOCH<sub>3</sub>), didukung dengan adanya bilangan gelombang 1473,5 cm<sup>-1</sup> (Silverstein dkk, 1981). Pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang 1647,1 cm<sup>-1</sup> dan 1637,5 cm<sup>-1</sup> menunjukkan pita uluran gugus C=O suatu amida (-NHCO). Silverstein dkk (1981) menyatakan bahwa getaran tekuk NH amida diketahui di daerah 1570-1515 cm<sup>-1</sup>. Serapan lebar gugus -CH<sub>3</sub> pada amida merupakan tumpang tindih dengan vibrasi tekuk gugus NH amida, sehingga tidak tampak pada spektra ini. Serapan tajam pada bilangan gelombang 862,1 cm<sup>-1</sup> memperlihatkan bahwa masih adanya mineral silika pada kitin dengan intensitas lebih rendah. Masih adanya serapan gugus karbonil pada 1647,1 cm<sup>-1</sup> dari amida (kitin) dan serapan lemah dari gugus amina sekunder yang terdeasetilasi (kitosan) menunjukkan sampel tidak sepenuhnya terdeasetilasi (Saraswathy dkk., 2001)

### Pembentukan kitosan

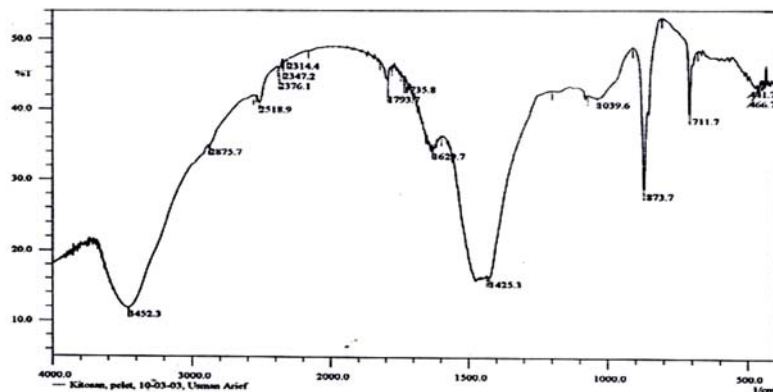
Kitosan diperoleh dengan melakukan proses deasetilasi pada kitin. Deasetilasi merupakan



Gambar 4. Spektra FTIR kitin.



Gambar 5. Reaksi hidrolisis kitin.



Gambar 6. Spektra FTIR kitosan.

proses pengubahan gugus asetil (-NHCOCH<sub>3</sub>) pada kitin menjadi gugus amina (-NH<sub>2</sub>) pada kitosan dengan penambahan NaOH konsentrasi tinggi. Reaksi deasetilasi kitin pada dasarnya adalah suatu reaksi hidrolisis amida dari α-(1-4)-2-asetamida-2-deoksi-D-glukosa.

Mahatmanti (2001) mengusulkan reaksi hidrolisis pada kitin seperti Gambar 5. Refluks pada proses ini menghasilkan gel. Berdasarkan spektra FTIR, dapat diperkirakan bahwa telah terjadi perubahan kitin menjadi kitosan. Spektra kitosan yang diperoleh diperlihatkan pada Gambar 6.

Spektra kitosan menginformasikan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3452,3 cm<sup>-1</sup> sebagai hasil dari vibrasi rentangan gugus -OH. Lebarnya serapan dan pergeseran bilangan gelombang gugus -OH ini disebabkan adanya tumpang tindih dengan gugus NH dari amina. Serapan pada bilangan gelombang 2875,7 cm<sup>-1</sup> mengindikasikan gugus C-H dari alkana yaitu menunjukkan vibrasi ulur gugus -CH<sub>2</sub>-. Hilangnya gugus metil (-CH<sub>3</sub>) yang terikat pada amida (-NHCOCH<sub>3</sub>) dapat diketahui dari hilangnya serapan pada bilangan gelombang 2918,1 cm<sup>-1</sup> serta hilangnya gugus C=O suatu amida (-NHCO-) diketahui dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang 1647,1 cm<sup>-1</sup> dan 1637,5 cm<sup>-1</sup>. Serapan khas kitosan terlihat pada bilangan gelombang 1629,7 cm<sup>-1</sup> menunjukkan getaran tekuk N-H dari amina (-NH<sub>2</sub>) (Silverstein dkk,1981). Pita serapan pada bilangan 1039,6 cm<sup>-1</sup> menunjukkan vibrasi ulur

gugus -C-O-. Serapan tajam pada bilangan gelombang 873,7 cm<sup>-1</sup> memperlihatkan bahwa mineral silika masih ada pada kitosan meskipun intensitasnya lebih rendah.

Difraksi sinar-x atau XRD digunakan untuk membantu menganalisis kitosan yang diperoleh. Data XRD dapat ditentukan dari nilai d kitosan yang sama dengan nilai d kitosan pada *Joint Committee of Powder Diffraction Standart* (JCPDS). Data ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Kitosan merupakan kitin yang terdeasetilasi, tetapi tidak cukup sempurna untuk dinamakan poliglukosamin (Bastaman, 1989 dalam Darjito, 2001) sehingga ditentukan pula pola difraksi sinar-x sampel kitosan yang sama dengan pola difraksi kitin standar dari data JCPDS. Data tersebut terlihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Perbandingan d kitosan standar JCPDS dengan d kitosan sampel.

d standar kitosan	d kitosan	Intensitas
3,17	3,17	310
2,98	3,00	4366
2,98	2,96	232
2,80	2,81	132
2,51	2,51	245
2,47	2,48	143
2,47	2,47	758
2,47	2,45	261
2,37	2,35	227

Tabel 2. Perbandingan d kitin standar JCPDS dengan d kitosan sampel.

d standar kitosan	d kitosan	Intensitas
3,32	3,32	1078
3,20	3,22	149
2,34	2,73	177
2,32	2,31	185
2,32	2,30	180
2,28	2,27	840
2,06	2,08	715
2,06	2,06	266
1,72	1,73	281
1,72	1,71	221

Hasil perhitungan diperoleh intensitas struktur kitosan yang sama dengan kitosan standar sebesar 40,25% dan yang sama dengan kitin standar sebesar 24,68%.

### Karakterisasi kitosan

Karakterisasi kitosan yang diperoleh diperlihatkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Karakterisasi kitosan.

Spesifikasi	Deskripsi
Warna	Putih kecoklatan
Bau	Tidak berbau
Bentuk	Kristal
Kadar air	3,26±0,45%
Kadar mineral	10,11±0,38%
Derajat deasetilasi	74,78 – 77,99%
Berat molekul	889,78
Derajat polimerisasi	5

Derajat deasetilasi dilakukan untuk mengetahui terbentuknya kitosan dari kitin. Derajat deasetilasi kitosan pada penelitian ini sebesar 74,78-77,99%, sehingga sesuai dengan derajat deasetilasi menurut Pujiastuti (2001) yang menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitin terhadap kitosan biasanya berkisar antara 70-100% tergantung penggunaannya

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: (i) kitin cangkang bekicot dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kitosan dengan kadar rendemen kitosan sebesar 6,95%. (ii) karakterisasi sifat fisika kimia kitosan yang dihasilkan meliputi derajat deasetilasi pada kitosan sebesar 74,78-77,99%, kadar air sebesar 3,26±0,45%, kadar mineral 10,11±0,38%, berat molekul rata-rata 889,78, dan derajat polimerisasi 5. Perlu dicari metode yang lebih baik dalam pemurnian kitin dari cangkang bekicot terutama pada proses demineralisasi.

### DAFTAR PUSTAKA

Aniek, M.H., 2000. Pengaruh kadar kitin dalam pakan terhadap laju pertumbuhan dan konsumsi pakan

- ikan gurame (**Osphronemus gouramy**). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*
- Darjito. 2001. *Karakterisasi Adsorpsi Co (II) dan Cu (II) pada Adsorben Kitosan Sulfat*. [Tesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana, UGM.
- Khan T.A., K.K. Peh, S.C. Hung. 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence analytical methods. *Journal of Pharmacological Science* 5 (3): 205-212. (www.ualberta.ca/-csps)
- Kim, S.Y., S.M. Cho, Y.M. Lee, and S.J. Kim. 2000. Thermo and pH responsive behaviours of graft copolymer and blend based on chitosan and N-isopropylacrylamide. *Journal of Applied Polymers Science* 78: 1381-1391
- Mahatmanti, F.W. 2001. *Studi Adsorben Logam Seng (II) dan Timbal (II) pada Kitosan dan Kitosan Sulfat dari Cangkang Udang Windu (Phenaeus monodon)*. [Tesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana UGM.
- No, H., Y. M.Lee, and S.P. Mayers. 2000. Corelation between physicochemical characteristics and binding capacities on chitosan product. *Journal of Food Science* 65: 1134-1137.
- Pujiastuti, P. 2001. *Kajian Transformasi Khitin Menjadi Khitosan Secara Kimiawi dan Enzimatik*. Seminar Nasional Jurusan Kimia, Surakarta, 13 Oktober 2001, Jurusan Kimia F MIPA UNS
- Salami L. 1998. *Pemilihan Metode Isolasi Khitin dan Ekstraksi Khitosan dari Limbah Kulit Udang Windu (Phenaeus monodon) dan Aplikasinya sebagai Bahan Koagulasi Limbah Cair Industri Tekstil*. [Skripsi]. Jakarta: Jurusan Kimia F MIPA UI.
- Santoso H.B. 1989. *Budidaya Bekicot*. Yogyakarta: Kanisius
- Saraswathy, G., S. Pal, C. Rose, and T.P. Sastry. 2001. A novel bioinorganic bone implant containing deglued bone, chitosan, and gelatin. *Bulletin Materials Science* 24: 415-420.
- Savant., D. Vivek, and J.A. Torres. 2000. Chitosan-based coagulating agents for treatment of cheddar chees whey. *Biotechnology Progress* 16: 1091-1097.
- Silverstein R.M., G.C. Bassler, dan T.C. Morrill. 1981. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Stephen, A.M. 1995. *Food Polysaccharides and their Applications*. Rondebosch: Department of Chemistry, University of Cape Town.
- Suhardi. 1993. *Khitin dan Khitosan*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM.
- Williams D. H. and L. Fleming. 1987. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. 4th edition. London: Mc Grow-Hill Book Company (UK) Limited.

## **Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Naftalen Asetat terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]**

### ***The effect of varied NAA concentration against growth and flavonoid content of *Gynura procumbens* (Lour) Merr. callus***

**ARIF HARDIYANTO, SOLICHAUN\*, WIDYA MUDYANTINI**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: olich@mipa.uns.ac.id.

Diterima: 23 Februari 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

---

**Abstract.** The aim of this research is to study the influence of naphthalene acetic acid (NAA) concentration variation in the callus growth and flavonoid content of daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]. The research framework relied on the benefit of daun dewa as anti cancer drug. This matter enabled by its compound cytotoxic from compound flavonoid contained. Culture in vitro technique serves the purpose of medium to produce the secondary metabolism. Addition of NAA as treatment for the induction of callus will promote cell enlargement and the growth of callus so that callus which later will be analysed by its flavonoid content. This research was conducted with two phase. First phase represented the phase of antecedent attempt in the form of callus induction to get the good callus. Addition of NAA and kinetin conducted to promote the cell proliferation. The parameter of this phase is texture, colour, and moment of callus appearance. Second phase is the form of NAA concentration variation treatment phase. At this research, it conducted with the random device complete with one factor that is 5 concentration NAA is 0 mg/L; 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 1,5 mg/L and 2,0 mg/L. The parameter of this phase is wet weight of the callus, dry weight of the callus, texture of the callus, colour of the callus, and flavonoid content. The result of this research indicated that the addition NAA does not influence on callus growth and the flavonoid content of callus daun dewa.

**Keywords:** naftalene acetic acid, callus growth, flavonoid, *Gynura procumbens* (Lour) Merr.

---

### **PENDAHULUAN**

Daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] merupakan salah satu tanaman obat dari familia Compositae yang potensial untuk dikembangkan. Menurut Subianto dalam Mudjahid (1998) daun dewa dapat dimanfaatkan sebagai obat anti kanker (kanker rahim, kanker payudara, maupun kanker darah). Khasiat daun dewa sebagai obat anti kanker dimungkinkan karena adanya senyawa sitotoksik yaitu senyawa flavonoid (Sudarto, 1990). Senyawa flavonoid merupakan salah satu produk dari proses metabolit sekunder tanaman. Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan suatu sel atau organ suatu organisme tetapi tidak dimanfaatkan secara langsung sebagai sumber energi sel atau organ yang membuatnya. Menurut Kyte dan Kleyn (1996) metabolit sekunder dapat diproduksi secara *in vitro* melalui kultur kalus.

Teknik kultur *in vitro* untuk mendapatkan metabolit sekunder dari kalus mempunyai keuntungan diantaranya menghemat waktu, tenaga, dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak dengan kondisi yang terkontrol dan dapat diproduksi sesuai dengan kebutuhan.

Pertumbuhan kalus sebagai penghasil metabolit sekunder dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh. (Hendaryono dan Wijayani, 1994; Suryowinoto, 1996).

Auksin dapat diberikan secara tunggal maupun dikombinasikan dengan sitokinin untuk menginduksi kalus. Menurut Chang *et al.* dalam Suryowinoto (1996) penggunaan asam naftalen asetat atau naftalene acetic acid (NAA) untuk induksi kalus pada eksplan yang nantinya akan dianalisis kandungan flavonoidnya memberikan efek yang lebih baik dibanding dengan auksin sintetik jenis lain. Hal ini disebabkan karena NAA tidak menimbulkan mutasi genetik yang dapat menyebabkan tidak konstannya produksi metabolit sekunder. Menurut Hrazdina (1992) NAA yang ditambahkan ke dalam media akan merangsang pembelahan sel dan sintesis protein sehingga akan memacu pertumbuhan kalus yang nantinya akan mempengaruhi produksi flavonoid.

Salah satu contohnya adalah penelitian kultur *in vitro* pule pandak yang dilakukan oleh Sandra dkk. (2002) dengan menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) + NAA 0,5 mg/l dan murzil amino purin (BAP) 2 mg/l dapat menghasilkan alkaloid sebesar 0,29% per bobot

kering. Penggunaan daun dewa sebagai ramuan anti kanker selama ini masih bersifat tradisional. Masyarakat kurang tahu tentang senyawa yang terkandung di dalamnya dan metode yang dapat digunakan untuk memproduksi senyawa tersebut (Maryani dan Suharmiati, 2003). Kultur *in vitro* dengan penambahan NAA dapat digunakan untuk menjembatani masalah tersebut. Kalus hasil perlakuan diharapkan dapat meningkatkan senyawa flavonoid.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (i) konsentrasi optimum NAA dalam meningkatkan pertumbuhan dan kandungan flavonoid kalus daun dewa, (ii) senyawa yang terkandung dalam daun dewa, dan (iii) penggunaan kultur *in vitro* untuk mendapatkan senyawa tersebut.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2002 - Maret 2003 di Sub Lab. Biologi, Lab. Pusat MIPA UNS Surakarta dan analisis kandungan flavonoid dilakukan di Pusat Penelitian Obat Tradisional, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan meliputi bahan tanaman sebagai sumber eksplan (daun ketiga dari pucuk), bahan kimia untuk sterilisasi (akuades, deterjen cair, alkohol 70%, klorok 30% dan 20%, fungisida (Dithane), dan alkohol absolut), media dasar Murashige dan Skoog, bahan perlakuan (NAA dengan konsentrasi 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l), media induksi kalus (0,5 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin untuk media A, dan 1 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin untuk media B), dan bahan untuk analisis flavonoid (amoniak, toluen, etil asetat, dan metanol).

### Cara kerja

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi asam naftalen asetat dengan 5 variasi konsentrasi yaitu: N<sub>0</sub>: 0 mg/l sebagai kontrol, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, dan N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l masing-masing dengan 5 ulangan. Prosedur percobaan ini dibagi menjadi 3 tahap yaitu: (1) percobaan pendahuluan, (2) perlakuan, dan (3) analisis kandungan flavonoid.

**Percobaan pendahuluan.** Percobaan ini dilakukan untuk menghasilkan kalus yang akan digunakan dalam media perlakuan. Tahapan dalam percobaan pendahuluan adalah sterilisasi eksplan (dengan fungisida 50% 5 menit, alkohol 70% 2 menit, klorok 20% 3 menit, dan klorok 30% 5 menit dan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali), proses penanaman (dalam *laminar air flow* dengan ukuran eksplan 1 × 1 cm) dan proses pemeliharaan (disemprot dengan alkohol 70% tiap 3 hari sekali). Tahap

pembentukan kalus diamati saat muncul kalus, tekstur dan warna kalus (4 minggu setelah penanaman eksplan).

**Perlakuan.** Kalus yang dihasilkan dari proses percobaan pendahuluan kemudian ditanam dalam media produksi sesuai dengan perlakuan. Tahap pertumbuhan kalus pada media perlakuan diamati tekstur dan warna kalus (4 minggu setelah perlakuan), berat basah kalus, berat kering kalus, dan laju pertumbuhan kalus.

**Analisis kandungan flavonoid.** Analisis kandungan flavonoid dilakukan dengan 2 cara yaitu uji pendahuluan dengan pereaksi amoniak untuk mengetahui ada tidaknya flavonoid dan uji lanjutan dengan analisis kuantitatif KLT. Fase diam yang digunakan yaitu lempeng silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya toluen: etil asetat (80:20) kemudian analisis kuantitatifnya dengan menggunakan spektrodensitometer yaitu C 5 930 Scanner (Shimadzu, Japan) (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil yang didapatkan berupa luas area serapan yang menunjukkan besarnya kepekatan flavonoid antara perlakuan satu dengan perlakuan yang lain. Kadar flavonoid disini tidak dapat dihitung/ditentukan karena tidak tersedianya larutan standart.

### Analisis data

Data berat basah kalus, berat kering kalus, laju pertumbuhan kalus, dan kandungan flavonoid dianalisis dengan Anava dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%, selanjutnya dianalisis korelasi. Sedangkan saat muncul kalus, warna kalus dan tekstur kalus dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Induksi Pembentukan Kalus

#### Saat muncul kalus

Tahap induksi kalus pada penelitian ini digunakan untuk mendapatkan kalus dari eksplan daun. Kalus yang terbentuk nantinya akan digunakan sebagai bahan perlakuan.

**Tabel 1.** Waktu yang diperlukan eksplan daun *G. procumbens* untuk membentuk kalus (HSI= Hari Setelah Inokulasi), beserta tekstur dan warnanya.

Media	Saat muncul kalus	Tekstur	Warna
A	16,8 <sup>a</sup>	Remah	Hijau, putih kekuningan
B	10,6 <sup>b</sup>	Remah	Hijau, putih kecoklatan

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom berarti tidak berbeda nyata dengan DMRT taraf 5%. A Media MS + 0,5 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin B. Media MS + 1 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin.

Munculnya kalus ditandai dengan membengkaknya eksplan dan munculnya bercak-bercak putih. Bagian eksplan yang membentuk kalus, menurut Suryowinoto (1996) disebabkan karena sel-sel yang kontak dengan media terdorong untuk menjadi meristematik dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka.

Media A kalus muncul pada 16,8 HSI (Hari Setelah Inokulasi), sedangkan pada media B kalus muncul pada 10,6 HSI (Tabel 1). Penambahan kombinasi NAA dan kinetin yang tepat menyebabkan kalus muncul lebih cepat pada media B. NAA pada konsentrasi 1 mg/l dan kinetin 0,5 mg/l mampu merangsang pembelahan sel eksplan dan melakukan proses dediferensiasi untuk membentuk kalus lebih cepat. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Toruan dalam Drajat (1999), NAA yang dikombinasikan dengan kinetin berkonsentrasi rendah pada kultur kalus tembakau lebih efektif membentuk kalus daripada menggunakan kinetin berkonsentrasi tinggi.

### Tekstur dan warna kalus

Media A dan B menghasilkan kalus yang bertekstur remah. Kalus yang remah (*freeable*) dapat diperoleh dengan melakukan sub kultur berulang-ulang, melakukan manipulasi media misalnya dengan mengatur macam dan perbandingan zat pengatur tumbuh dan dengan penggojogan (Wattimena, 1992).

Warna yang dihasilkan pada media A putih kekuningan sedangkan media B putih kecoklatan (Tabel 1.). Warna hijau masih terdapat pada kalus hasil induksi kalus. Hal ini disebabkan kalus masih membawa sifat asli eksplan. Perubahan warna dari eksplan yang berwarna hijau menjadi putih kecoklatan atau putih kekuningan disebabkan adanya proses degradasi klorofil (Santosa dan Nursandi, 2002). Adapun tekstur dan warna kalus *G. procumbens* pada awal dan akhir perlakuan disajikan pada Tabel 2.

#### Pertumbuhan kalus pada media perlakuan

### Tekstur dan warna kalus

Kalus pada media perlakuan mempunyai tekstur remah. Hal ini disebabkan terjadinya proses pertumbuhan yang mengarah pada pembentukan sel-sel yang berukuran kecil dan

**Tabel 2.** Tekstur dan warna kalus *G. procumbens* pada awal dan akhir perlakuan.

Perlakuan	Tekstur kalus		Warna kalus	
	Awal	Akhir	Awal	Akhir
N <sub>0</sub> U <sub>1</sub>	remah	kompak	coklat	coklat
N <sub>0</sub> U <sub>2</sub>	remah	kompak	coklat	coklat
N <sub>0</sub> U <sub>3</sub>	remah	kompak	coklat	coklat
N <sub>0</sub> U <sub>4</sub>	remah	kompak	coklat	coklat tua
N <sub>0</sub> U <sub>5</sub>	remah	kompak	coklat	coklat tua
N <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat
N <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat
N <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat muda
N <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat
N <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	remah	remah	coklat	coklat tua
N <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat muda
N <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat
N <sub>3</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat tua
N <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>1</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>2</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>3</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat
N <sub>4</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>5</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda

Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l. U<sub>1</sub>-U<sub>5</sub>: ulangan 1-5.

berikatan longgar. Menurut Steves dan Sussex (1994) sel-sel yang menyusun kalus cenderung berbentuk tidak teratur, relatif kecil-kecil ukurannya, inti selnya besar, dan sitoplasma yang masih kental.

Tekstur kalus yang tampak pada perlakuan N<sub>0</sub> (tanpa hormon) terlihat adanya perubahan dari remah menjadi kompak. Hal ini disebabkan sel-sel yang semula membelah mengalami penurunan aktivitas proliferasinya. Aktivitas ini dipengaruhi auksin alami yang terdapat pada eksplan asal (Santosa dan Nursandi, 2002). Menurut Street (1993) kalus yang kompak merupakan susunan sel-sel yang rapat dan sulit dipisah-pisahkan.

Kalus pada awal perlakuan berwarna coklat muda sedangkan pada akhir perlakuan berwarna coklat, coklat muda dan coklat tua. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya *browning* (pencoklatan). Hal ini tampak sekali pada perlakuan 0 mg/l. Pencoklatan ini disebabkan adanya reaksi enzimatis yang mengarah pada pembentukan senyawa fenol (Santosa dan Nursandi, 2002).

**Tabel 3.** Rata-rata berat basah kalus *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan.

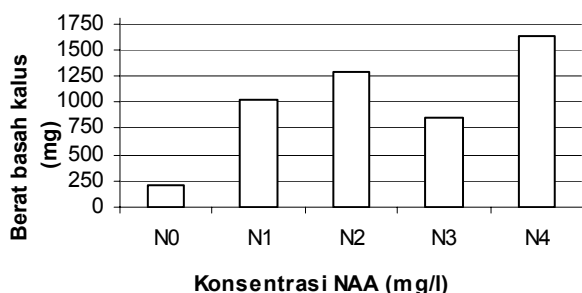
Perlakuan	N <sub>0</sub>	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>
Berat basah (mg)	216	1.026	1.294	854	1.631
Berat kering (mg)	27	64	95	68	93
Laju pertumbuhan (mg/hari)	0,0061	0,0292	0,0369	0,0243	0,046
Luas area serapan flavonoid	40.816,1	49.406,0	55.809,9	53.790,8	74.163,4

Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l.

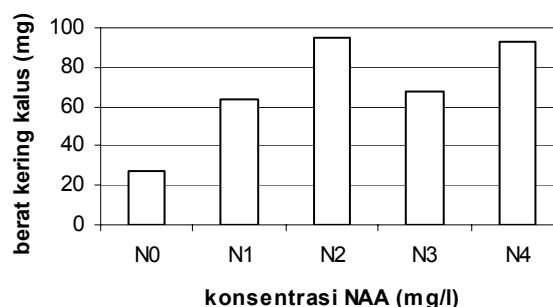
### Berat basah kalus

Pengaruh penambahan NAA terhadap berat basah kalus tidak beda nyata antar perlakuan, namun pada grafik hubungan konsentrasi NAA terhadap berat basah (Tabel 3 dan Gambar 1) terlihat kecenderungan naiknya berat basah seiring dengan penambahan konsentrasi NAA, walaupun pada penambahan 1,5 mg/l NAA terjadi penurunan. Hal ini disebabkan kemampuan masing-masing sel untuk menyerap air dan untuk membentuk dinding sel yang baru berbeda meskipun sama-sama berasal dari eksplan daun yang ketiga.

Penurunan berat basah kalus pada N<sub>3</sub> mungkin disebabkan tingkat juvenilitas sel yang berbeda. Sel yang lebih muda cenderung lebih mudah menyerap air daripada sel yang lebih tua (Lakitan, 1996). Penambahan NAA sebesar 2 mg/l menghasilkan kalus seberat 1,631 mg. Hal ini disebabkan pada kadar tersebut NAA dapat meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan pelonggaran dinding sel yang diikuti penurunan tekanan dinding sel, sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel (Hendaryono dan Wijayani, 1994).



**Gambar 1.** Hubungan konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan. Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l.



**Gambar 2.** Hubungan konsentrasi NAA terhadap berat kering kalus *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan. Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l.

Perlakuan N<sub>0</sub> (kontrol) terlihat rata-rata berat basah kalus yang rendah. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa penambahan NAA kalus dapat muncul. Terjadinya pertumbuhan kalus tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dimungkinkan karena terdapatnya auksin endogen (Santosa dan Nursandi, 2002).

### Berat kering kalus

Pengaruh penambahan NAA terhadap berat kering kalus tidak beda nyata antar perlakuan. Hubungan antara konsentrasi NAA terhadap berat kering kalus disajikan dalam Tabel 3 dan Gambar 2.

Pemberian 1 mg/l NAA dan 2 mg/l NAA menunjukkan hasil yang hampir sama tinggi dalam memproduksi biomassa yang ditunjukkan dengan berat kering kalus seberat 95 mg dan 93 mg. Hal ini disebabkan pada konsentrasi tersebut NAA mampu menghasilkan biomassa yang tinggi akibat sel-selnya mampu membelah diri dan memperbanyak diri yang dilanjutkan dengan pembesaran kalus yang lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) NAA akan membantu menurunkan tekanan turgor sel sehingga air mudah masuk ke dalam sel. Hasil yang hampir

sama diperoleh Dwari dan Chand (1999) yaitu penambahan 0,5 mg/l, 1 mg/l, dan 1,5 mg 2 mg NAA + 0,5 benzil amino purin (BAP) menghasilkan berat kering kalus yang tidak berbeda nyata setelah 3 minggu perlakuan.

Gambar 2 menunjukkan adanya korelasi antara berat basah kalus dengan berat kering kalus. Selama masa pengeringan dapat diasumsikan bahwa kalus akan mengalami proses evaporasi yang sama maka akan didapatkan pola grafik berat kering kalus yang serupa dengan pola grafik berat basah kalus (Gambar 1) (Goldsworthy dan Fisher, 1992). Perbedaan terjadi pada penambahan 2 mg/l NAA yang berat keringnya lebih rendah dibandingkan dengan penambahan 1 mg/l NAA. Hal ini mungkin disebabkan berat basah yang dihasilkan kandungan airnya lebih tinggi sehingga pada saat proses pengeringan, kandungan airnya lebih banyak yang menguap sehingga didapatkan berat kering yang lebih rendah.

#### Laju pertumbuhan kalus

Pengaruh penambahan NAA terhadap laju pertumbuhan kalus tidak beda nyata antar perlakuan. Hasil ini sesuai dengan penelitian Shimaru (1992) pada kultur *Liquidambar styraciflua* pada penambahan 0,5 mg/l dan 2 mg/l NAA menunjukkan laju pertumbuhan yang tidak berbeda nyata yang disebabkan penambahan NAA pada konsentrasi tersebut belum dapat memacu pertambahan berat basah kalus yang signifikan (Tabel 3.).

Laju pertumbuhan kalus yang nilainya lebih tinggi dimungkinkan karena adanya pengaktifan gen yang berarti terjadi proses penguatan terhadap aktivitas replikasi DNA dan transkripsi berulang DNA menjadi mRNA yang diikuti oleh translasi mRNA menjadi protein. NAA menjadi pengendali pada beberapa titik dalam aliran informasi genetik mulai dari replikasi sehingga proses proliferasi sel dan morfogenesis dapat berjalan (Santosa dan Nursandi, 2002).

Lambatnya laju pertumbuhan kalus secara umum disebabkan kondisi internal eksplan yang permukaannya dilindungi oleh lapisan kutikula. Selain itu juga permukaan eksplan secara mikroskopis pada daunnya banyak terdapat rambut-rambut penutup berjumlah 4-5 sel yang dapat menghambat absorpsi zat hara dari media (Maryani dan Suharmiati, 2003).

#### Analisis Kandungan Flavonoid Kalus

Analisis kromatografi lapis tipis yang digunakan untuk menganalisis kandungan flavonoid dari semua konsentrasi NAA ternyata menunjukkan hasil yang positif (Tabel 3). Hal ini ditunjukkan pada hasil pemeriksaan kualitatif dan

**Tabel 4.** Nilai korelasi berat basah, berat kering, laju pertumbuhan kalus, dan luas area serapan flavonoid *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan.

	Berat basah	Berat kering	Laju pertumbuhan	Luas area serapan flavonoid
Berat basah	1,000	0,638	1,000	0,393
Berat kering	0,638	1,000	0,647	0,248
Laju pertumbuhan	1,000	0,647	1,000	0,388
Luas area serapan flavonoid	0,393	0,248	0,388	1,000

kuantitatif. Hasil pemeriksaan kualitatif adanya flavonoid ditunjukkan dengan warna kuning pada deteksi *visible*, warna redam pada  $\lambda$  254, dan warna jingga pada  $\lambda$  365 (Wagner dan Blatt, 1996). Pemeriksaan kuantitatif didapatkan suatu luas area kandungan flavonoid pada masing-masing perlakuan. Luas area tersebut hanya dapat diketahui seberapa besar perubahan kepekatan flavonoid pada masing-masing perlakuan. Menurut Sudarto dkk. (1986) pada *Sonchus arvensis*, L. (Compositae) belum terdeteksi adanya senyawa flavonoid yang spesifik sehingga hanya bisa diketahui senyawa flavonoid secara umum. Flavonoid secara spesifik dapat diketahui dengan adanya larutan pembanding atau larutan standart seperti rutin, quersetin, myrsetin dan lain-lain (Wagner dan Blatt, 1996).

Pengaruh penambahan NAA terhadap luas area serapan flavonoid tidak beda nyata antar perlakuan. Hal ini mungkin disebabkan penambahan NAA masih digunakan untuk proses pertumbuhan kalus sehingga luas area serapan flavonoid yang terdeteksi tidak signifikan. Rata-rata perlakuan terlihat luas area maximum terdapat pada perlakuan N<sub>4</sub>. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut NAA yang ditambahkan dapat meningkatkan kerja enzim fenilalanin amonia liase (FAL). NAA dalam sintesis flavonoid berfungsi untuk meningkatkan kerja enzim fenilalanin amonia liase (FAL) yang menghasilkan sinamat dari fenilalanin. Tahapan selanjutnya pembentukan flavonoid dari malonil CoA, sehingga apabila konsentrasi NAA maksimal maka pembentukan flavonoid dimungkinkan juga maksimal (Hrazdina, 1992).

Perlakuan yang lain menunjukkan rata-rata hasil yang hampir seragam. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa penambahan dan dengan penambahan NAA sampai kadar 1,5 mg/l flavonoid yang terdeteksi relatif rendah. Rendahnya luas area serapan flavonoid pada perlakuan tersebut dapat disebabkan NAA yang ditambahkan masih digunakan untuk meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan kalus (Santosa dan Nursandi, 2002).

*Analisis korelasi berat basah, berat kering, laju pertumbuhan kalus dan luas area serapan flavonoid*

Besarnya nilai korelasi antara berat basah dengan laju pertumbuhan menunjukkan bahwa berat basah kalus sangat berkaitan dengan laju pertumbuhan kalus. Hal tersebut disebabkan laju pertumbuhan kalus dapat diketahui dengan menggunakan parameter berat basah kalus pada awal dan berat basah kalus pada akhir percobaan. Berat basah kalus sendiri didapatkan dari selisih antara berat basah kalus awal dengan berat basah kalus akhir percobaan. Pengikatan NAA pada membran sel dapat menyebabkan sel tersebut mengembang, sehingga secara kuantitatif berat kalus meningkat. Peningkatan berat basah akan mempengaruhi laju pertumbuhan kalus (Santosa dan Nursandi, 2002). Tabel 4 dapat diketahui bahwa masing-masing faktor berkorelasi positif.

Antara berat basah kalus dengan berat kering kalus merupakan 2 faktor yang berkorelasi positif. Hal ini berarti semakin tinggi berat basah kalus maka berat kering kalus juga mengalami kenaikan. Menurut Wetter dan Constabel (1991) hubungan antara berat basah dan berat kering yang dikulturkan biasanya tetap linier jika berat basah di bawah 500 mg. Laju pertumbuhan kalus selain dipengaruhi oleh berat basah kalus juga dipengaruhi berat kering kalus. Besarnya nilai korelasi menunjukkan bahwa berat kering kalus mempunyai hubungan yang berbanding lurus dengan berat basah kalus.

Berat basah kalus, berat kering kalus, dan laju pertumbuhan kalus mempunyai nilai korelasi di bawah 50% (Tabel 4). Hal ini berarti faktor-faktor tersebut kurang mempengaruhi luas area serapan flavonoid. Lindsay dan Yoenan dalam Gati dan Mariska (1992) menyatakan bahwa kalus yang pertumbuhannya cepat serta rapuh dapat menurunkan akumulasi senyawa metabolit sekunder.

## KESIMPULAN

Penambahan NAA sampai dengan konsentrasi 2 mg/l tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan kalus baik pada berat basah, berat kering, laju pertumbuhan kalus dan kandungan flavonoid kalus *G. procumbens*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh penambahan NAA dalam konsentrasi yang lebih tinggi. Selain itu juga disarankan untuk memperpanjang masa inkubasi kalus agar dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan dan kandungan flavonoid kalus *G. procumbens*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Drajat, I. 1999. *Produksi Nikotin Kalus Tembakau (Nicotiana tobaccum) pada berbagai Konsentrasi NAA dan Kinetin*. [Skripsi]. Yogyakarta: UPN Veteran.
- Dwari, M. and P.R. Chand 1999. Rapid plant regeneration from explants and callus cultures of the three legumes *Dalbergia lanceolaria*, L. In Islam, A.S. (ed.). *Plant Tissue Culture*. New York: Science Publisher Inc.
- Gati, E. dan I. Mariska 1992. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan kalus *Mentha piperita*. Linn. *Bulletin Litri* 3: 1-4.
- Goldsworthy, P.R. and N.M. Fisher 1992. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. Penerjemah: Tohari. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani 1994. *Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hrazdina, G. 1992. Compartemeration in aromatic metabolism In Stafford, A.H. and K.R. Ibrahim (Eds.). *Phenolic Metabolism in Plant*. New York: Plenum Press.
- Kyte, L. and J. Kleyn 1996. *Plant from Test Tubes an Introduction to Micropropagation*. 3rd Edition. Washington: Timber Press Inc
- Lakitan, B. 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Jakarta: P.T. Raja Grafindo Persada.
- Maryani, H. dan Suharmiati. 2003. *Khasiat dan Morfologi Daun Dewa dan Sambung Nyawa*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Mudjahid, A. 1998. *Pengaruh Daun Dewa terhadap Perubahan Morfologi Sel serta Struktur Morfologi Lesi Jaringan Hepar Tikus*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Kedokteran UNS.
- Sandra, E., E.A.M. Zuhud, Y. Fitria, F. Yahya, dan T. Anwar, 2002. *Kultur In Vitro Tumbuhan Obat Langka Pule Pandak*. Bogor: Forum Kultur Jaringan.
- Santosa, U. dan Nursandi, F. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Penerbit UMM Press.
- Steeves, T.A. and I.M. Sussex 1994. *Pattersin Plant Development*. Second Edition. New York: Cambridge University Press.
- Street, H.E. 1993. *Plant Tissue and Cell Culture*. Los Angeles: University of California Press.
- Sudarto, B. 1990. *Studi Farmakognosi Tumbuhan Gynura procumbens (Lour) Merr.* Tesis. Yogyakarta: Fakultas Pasca Sarjana UGM.
- Sudarto, B., C.J. Soegihardjo, dan S. Wahyono 1986. Pemeriksaan flavonoid dalam daun *Sonchus arvensis*, L. Dalam Mulyadi (ed.). *Abstrak Pemeriksaan dan Publikasi Ilmiah*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM.
- Wagner, H. and S. Bladt 1996. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Second Edition. London: Springer.
- Wattimena, G.A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Wetter, L.R. and F. Constabel 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Edisi ke 2. Penerjemah: Mathilda. Bandung: Penerbit ITB.

## REVIEW: Pandangan Baru Kurkumin dan Aktivitasnya sebagai Antikanker

### REVIEW: The new paradigm of curcumin and its anticancer activity

ARIEF NURROCHMAD\*

Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta 55281.

\* Korespondensi: ariefnr@ugm.ac.id, Tel.: +62-274-902660, Fax: +62-274-543120.

Diterima: 14 Juni 2004. Disetujui: 18 Agustus 2004.

**Abstract.** Curcumin, derived from the rhizome of *Curcuma longa* L. is used as a coloring and flavoring additive in many foods and has attracted interest because of its antioxidant activity, antiinflammatory and chemopreventive activities. Various curcumin-related phenols have also been found in edible or medicinal plants, especially in Zingiberaceae. Curcumin has a unique conjugated structure including two methoxylated phenols and an enol form of  $\beta$ -diketone, and the structure shows a typical radical trapping ability as a chain-breaking antioxidant. Curcumin has demonstrated anticarcinogenic effects in numerous animal models including skin and gastrointestinal carcinomas. Curcumin also inhibited benzo[a]pyren- or DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene)-induced skin cancer in a mice carcinogenesis model. Curcumin inhibits chemically induced carcinogenesis in the skin, forestomach, and colon when it is administered during initiation and/or postinitiation stages. Curcumin directly inhibited the activity of COX-2. The anti-inflammatory properties of curcumin have been attributed, at least in part, to suppression of PG synthesis. Curcumin also inhibited COX-2 transcription in bile acid and phorbol ester-treated gastrointestinal cell lines. Additionally, administration of curcumin into the rats during the initiation and postinitiation stages and throughout the promotion/progression stage increased apoptosis in the colon tumors. This article provide a mechanistic basis for the antioxidant, chemopreventive and antiinflammatory related-anticancer properties of curcumin.

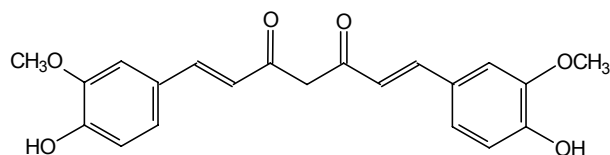
**Key words:** curcumin, chemopreventive, COX-2, carcinogenesis, apoptosis.

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu kelompok penyakit yang mempunyai lebih dari 100 jenis, yang ditandai oleh tidak terkontrolnya pertumbuhan seluler, invasi jaringan lokal, dan metastasis ke tempat yang jauh dari tempat sel tumor. Penyakit ini menempati peringkat kedua setelah kardiovaskular dalam menimbulkan kematian di Inggris dan Amerika Serikat (Di Piro *et al.*, 1997). Di Indonesia kematian akibat kanker mencapai 4,3 % dan menduduki peringkat ke-6 penyebab kematian dan mempunyai kecenderungan yang semakin meningkat (Anonim, 1988).

Usaha-usaha pencegahan atau pengobatan kanker menjadi semakin penting mengingat tingkat kejadiannya yang cukup tinggi. Beberapa usaha pengobatan kanker telah dilakukan secara intensif meliputi pengobatan fisik, dengan pembedahan maupun dengan pengobatan dengan senyawa kimia (kemoterapi). Sampai saat ini obat kanker yang benar-benar efektif belum ditemukan. Hal ini karena rendahnya selektifitas obat-obat kanker yang digunakan maupun karena belum diketahuinya dengan jelas proses karsinogenesis itu sendiri.

Kurkumin (Gambar 1.) merupakan bagian terbesar pigmen kuning yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) yang memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antineoplastik. Oleh penduduk Asia, utamanya India dan Indonesia zat warna kuning dari kurkuma tersebut sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan, bumbu atau obat-obatan dan tidak menimbulkan efek toksik yang merugikan (Meiyanto, 1999).



**Gambar 1.** Struktur kurkumin (1,7 bis (4-hidroksi-3-metoksifenil) 1,6-heptadiene-3,5 dion)

Selama dua dekade belakangan ini penelitian tentang kurkumin sebagai bahan aktif untuk beberapa penyakit telah banyak dilakukan. Di antara penelitian-penelitian tersebut antara lain melaporkan tentang efek kurkumin sebagai

antioksidan (Rao, 1997; Majeed *et al.*, 1995), antiinflamasi (Van der Goot, 1997; Sardjiman, 1997), antikolesterol (Bourne *et al.*, 1999), antiinfeksi (Sajithlal *et al.*, 1998), antikanker (Huang *et al.*, 1997; Singletary *et al.*, 1998; Huang *et al.*, 1998), dan anti HIV (Mazumder *et al.*, 1997; Barthelemy *et al.*, 1998).

Mekanisme aksi kurkumin sebagai antikanker merupakan suatu permasalahan yang sangat kompleks. Aktivitas antioksidan dan penangkap radikal kurkumin terdokumentasi dengan baik dan mengindikasikan hubungannya sebagai penghambat proses karsinogenesis kanker. Aktivitasnya sebagai antiinflamasi yaitu sebagai inhibitor enzim siklooksigenase memiliki kaitan dengan aktivitasnya sebagai antikanker terutama kanker kolon. Penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin juga aktif dalam menghambat proses karsinogenesis pada tahap inisiasi dan promosi atau progresi. Akhir-akhir ini dilaporkan bahwa kurkumin juga memiliki efek memacu proses apoptosis yaitu suatu proses alami kematian sel dalam rangka mempertahankan integritas sel secara keseluruhan (Meiyanto, 1999). Penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin mampu menghambat proliferasi sel dan menginduksi perubahan siklus sel pada *colon adenocarcinoma cell lines* tanpa tergantung jalur prostaglandin (Hanif *et al.*, 1997). Kurkumin juga mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara manusia tanpa tergantung ekspresi reseptor estrogen (Verma *et al.*, 1998).

## KURKUMIN SEBAGAI ANTIKANKER

Beberapa aspek hayati kurkumin telah banyak dilaporkan dalam berbagai literatur. Aspek hayati kurkumin yang saat ini banyak dikembangkan adalah kinerja farmakologisnya sebagai antiinflamasi, antihepatotoksik dan antikanker. Sebagai antikanker aksi kurkumin biasanya dikaitkan dengan aktivitasnya sebagai senyawa penangkal radikal, antioksidan, antiproliferasi, antiinflamasi, yaitu sebagai inhibitor enzim siklooksigenase (suatu enzim yang mengkatalisis pembentukan prostanoide dari asam arakidonat), dan juga sebagai senyawa pemacu apoptosis. Penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin juga aktif dalam menghambat proses karsinogenesis pada tahap inisiasi dan promosi/progresi. Akhir-akhir ini juga dilaporkan bahwa kurkumin memiliki efek angiogenesis dan memacu proses apoptosis (suatu proses kematian sel dalam rangka mempertahankan integritas tubuh secara keseluruhan) (Meiyanto, 1999).

### 1. Kurkumin sebagai senyawa penangkal radikal (*radical scavenger*) dan antioksidan

Kurkumin telah dikenal memiliki aktivitas antioksidan (Sharma, 1976) dan sebagai penangkal radikal (Tonnesen and Greenhill,

1992). Di samping itu kurkumin juga bertindak sebagai katalisator pembentukan radikal hidroksil (Kunchandy and Rao, 1989). Kemampuan tersebut menjadikan kurkumin mampu bertindak sebagai *radical scavenger* terhadap metabolit antara reaktif senyawa karsinogen, sehingga mengurangi insiden terjadinya kanker.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian kurkumin pada punggung mencit mampu menghambat pembentukan tumor kulit yang terinduksi benzo[a]piren atau DMBA (7,12-dimetilbenz[a]antrasen) (Huang *et al.*, 1992). Sifat kemopreventif kurkumin ini selain karena kemampuannya sebagai penangkap radikal juga karena kurkumin memiliki kemampuan dalam menghambat sitokrom P450 dan enzim glutathion S-transferase sehingga akan menghambat aktivitas benzo[a]piren sebagai mutagen (Oetari *et al.*, 1996).

Berdasarkan hasil penelitian Rao (1997) menunjukkan bahwa kurkumin merupakan penangkal radikal terhadap radikal hidroksil, anion superoksid, dan oksigen singlet. Kurkumin mampu memproteksi plasmid pBR322 DNA terhadap pecahnya untai tunggal DNA akibat induksi oleh singlet oksigen, sebuah spesies oksigen reaktif yang bersifat genotoksik dan mutagenik. Bagaimanapun juga kurkumin merupakan antioksidan yang poten dan sebagai penangkal radikal oksigen dan nitrogen dari proses biologis yang terjadi di dalam tubuh. Kurkumin juga poten sebagai inhibitor lipid peroksidase yang terinduksi berbagai agen selular atau asing. Sifat ini mungkin mempunyai peranan penting dalam mekanisme aksi kurkumin sebagai antiinflamasi, antitumor, dan aktivitas farmakologi lainnya (Rao, 1987).

### 2. Kurkumin sebagai inhibitor siklooksigenase (COX)

Sampai saat ini di dalam tubuh ada dua jenis COX yang merupakan bentuk isoform yaitu COX-1 dan COX-2 yang keduanya memiliki aktivitas yang sama sebagai katalis sintesis prostanoide dari asam arakidonat. Enzim siklooksigenase tipe 1 (COX-1) secara konstitutif diekspresi secara nyata oleh hampir seluruh tubuh mamalia pada tingkat konstan dan hanya akan mengalami kenaikan sedikit bila ada stimulasi karena faktor pertumbuhan atau selama masa diferensiasi, sedangkan COX-2 diekspresi hanya oleh sebagian saja dari jaringan dalam tingkat yang rendah. Enzim siklooksigenase tipe 2 (COX-2) biasanya akan diekspresi lebih banyak karena adanya rangsang mitogen, sitokin, dan promoter tumor yang bisa diakibatkan oleh adanya kerusakan sel atau bentuk stress yang lain (O'Neill *et al.*, 1993; De Witt, 1991; dan Dubois *et al.*, 1998).

Enzim siklooksigenase tipe 1 (COX-1) berperan sangat penting dalam menjaga proses-proses fisiologis pada berbagai jaringan atau organ. Misalnya pada ginjal, COX-1

berfungsi untuk menjaga elastisitas pembuluh darah sehingga proses filtrasi dapat berlangsung dengan baik, sedang pada lambung berfungsi untuk menjaga integritas mukosa lambung dengan cara mengatur vasodilatasi pembuluh darah (Dubois *et al.*, 1998). Ekspresi COX-2 di pacu karena adanya rangsang tertentu dan berfungsi sebagai pendukung COX-1. Pada beberapa sel kanker ekspresi COX-2 menunjukkan adanya peningkatan yang nyata (Crofford, 1996). Bahkan pada beberapa kanker kolon ekspresi COX-2 menunjukkan adanya peningkatan yang sangat tinggi dibandingkan pada keadaan normal (Kutchera *et al.*, 1996; Sano *et al.*, 1995)

Pada sel-sel kanker ekspresi berlebih COX-2 yang berakibat pada produksi berlebih prostanoide akan meningkatkan proliferasi sel (Kinoshita *et al.*, 1999) dan mencegah apoptosis (Battum *et al.*, 1998). Peningkatan proliferasi sel terjadi karena adanya aktivitas beberapa onkogen yang terlibat dalam signal mitogenik seperti *Ras* (suatu tipe gen pengaktivasi proliferasi). Penghambatan terhadap proses apoptosis merupakan akibat dari adanya ekspresi berlebih *bcl-2* (suatu tipe gen penghambat proliferasi). Di samping itu produksi berlebih enzim siklooksigenase tipe 2 (COX-2) pada sel-sel kanker kolon juga ikut memacu proses angiogenesis (suatu proses pembentukan pembuluh darah baru akibat adanya sel kanker) (Tsuji *et al.*, 1998). Peristiwa ini disebabkan oleh produk katalisis COX-2 akan memacu aktivitas faktor angiogenik.

Adanya penghambatan terhadap enzim siklooksigenase (COX), maka produksi berlebih prostanoide dapat dicegah dan akan mengurangi efek inflamasi. Pada sel kanker hal tersebut akan mengurangi proliferasi sel dan mencegah apoptosis. Pada jalur ini proses apoptosis dipacu karena adanya akumulasi asam arakidonat akibat penghambatan enzim siklooksigenase (COX). Akumulasi asam arakidonat akan mengaktifkan enzim sphingomielinase yang mengkatalisis pembentukan seramid dari sphingomielin. Adapun seramid merupakan pemacu positif proses apoptosis (Chan *et al.*, 1998).

Mekanisme aksi kurkumin tidak terbatas pada penghambatan COX, tetapi juga menghambat aktivitas enzim lipooksigenase (LOX) sehingga akan mengurangi produk LOX yang berupa 5 (S)-, 8 (S)-, 12 (S)-, dan 15 (S)- HETE (asam hidroksieikosatetraenat) pada mukosa kolon dan beberapa kanker. Mekanisme ini sangat bermakna sebagai antikanker karena metabolit enzim lipooksigenase (LOX) seperti 12 (S)-HETE (asam hidroksieikosatetraenat) terbukti memacu penyebaran sel kanker dan berpotensi terjadinya metastasis. Ditemukan pula hubungan yang positif antara tingkat 8 (S)-HETE dengan hiperproliferasi dan perkembangan tumor yang diinduksi oleh TPA, suatu porbol ester (Kawamori *et al.*, 1999).

### 3. Kurkumin sebagai senyawa antiproliferasi

Kurkumin mampu menghambat proses perkembangbiakan sel, sehingga disebut senyawa antiproliferasi. Pada mamalia, perkembangbiakan sel diatur oleh serangkaian protein yang diproduksi oleh gen-gen pengatur tumor yang disebut onkogen (yang pada keadaan normal disebut protoonkogen) dan *tumor suppressor gene (TS)* (suatu tipe gen penghambat perkembangbiakan sel) (Mandelson *et al.*, 1995 *cit* Meiyanto, 1999). Kedua jenis gen tersebut dibedakan berdasarkan fungsinya. Onkogen berfungsi sebagai pemacu perkembangbiakan sel, sedangkan *tumor suppressor gene (TS)* berfungsi sebagai penghambat perkembangbiakan. Kedua jenis gen tersebut bekerja secara harmonis dalam mengatur perkembangbiakan sel dalam rangka menjaga integritas tubuh secara keseluruhan. Kerusakan atau terjadinya mutasi pada gen-gen tersebut beresiko terjadinya kanker atau proliferasi sel yang berlebihan.

Kurkumin mampu menghambat perkembangbiakan sel melalui berbagai mekanisme. Kurkumin dilaporkan mampu menghambat aktivitas protein kinase C (PKC) karena perlakuan dengan porbol ester (Liu and Lin, 1993 *cit* Meiyanto, 1999). Protein ini mempunyai peran yang sangat vital pada proses awal pembelahan sel yaitu berperan dalam aktivasi *Raf* melalui proses fosforilasi (Sozeri *et al.*, 1992 *cit* Meiyanto, 1999). Penghambatan terhadap PKC berarti menghambat satu proses perkembangbiakan sel sehingga senyawa yang menghambat aktivitas PKC tersebut berpotensi sebagai antikanker atau lebih tepatnya sebagai zat kemopreventif.

Kurkumin menunjukkan efek antiproliferatif pada *colon adenocarcinoma cell lines* (jenis HT-29 dan HCT-15). Antiproliferatif kurkumin ini disebabkan karena adanya perubahan pada siklus sel yang tidak tergantung pada sintesis prostaglandin (Hanif *et al.*, 1997). Pada kedua jenis *cell lines* di atas kurkumin mampu menginduksi akumulasi sel pada fase G2/M dari siklus sel. Kurkumin juga mampu menghambat perkembangbiakan sel kanker payudara melalui jalur lain. Kurkumin mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara manusia tidak tergantung terhadap reseptor estrogen. Penghambatan tersebut lebih efektif pada pertumbuhan sel ER (*estrogen receptor*) negatif daripada sel ER positif (Verma *et al.*, 1998). Aktivasi pada reseptor estrogen ini akan mengakibatkan aktivasi faktor transkripsi untuk memacu pertumbuhan sel melalui induksi RNA polimerase (Jordan, 1998). Aktivasi pada keadaan normal dilakukan oleh estrogen atau senyawa yang menyerupai estrogen seperti pestisida. Pada jalur ini penghambatan perkembangbiakan sel kanker payudara oleh kurkumin akan lebih efektif bila dilakukan bersama-sama dengan senyawa isoflavonoid

seperti genistein (Verma *et al.*, 1998). Kurkumin juga mampu menghambat aktivitas tirosin kinase dari protein *p185<sup>neu</sup>* (Hong *et al.*, 1999) yaitu suatu protein yang dihasilkan oleh onkogen *erb B-2/neu* (atau dikenal sebagai HER-2). Onkogen ini diekspresi secara berlebihan pada sekitar 30 % kasus kanker payudara (Salmon *et al.*, 1997). Mekanisme penghambatan ini melalui dua cara, pertama dengan menghambat aktivitas enzimatik dari protein tersebut dan kedua dengan cara menurunkan kadarnya. Aktivitas ganda yang ditunjukkan oleh kurkumin tersebut terbukti sangat efektif untuk mencegah proliferasi sel-sel kanker dan sekaligus mencegah penyebarannya.

Kurkumin pada kadar rendah (10-100 µg) mampu menghambat ekspresi *c-myc* (suatu tipe gen pemacu proliferasi sel) (Chen *et al.*, 1998). Gen ini merupakan protoonkogen yang mempunyai peran yang sangat penting dalam proliferasi sel yaitu mengaktivasi faktor transkripsi sehingga akan memasuki daur sel sehingga dapat menginduksi terjadinya mitosis. Gen ini diketahui diekspresi sangat kuat pada berbagai jenis tumor (Claassen and Hann, 1999).

#### 4. Kurkumin sebagai senyawa pemacu apoptosis

Apoptosis merupakan program bunuh diri dari sebuah sel. Program ini memiliki peranan penting untuk menjaga homeostasis perkembangbiakan sel. Salah satu peran pentingnya adalah untuk membatasi proliferasi sel yang tidak diperlukan yang sekiranya dapat menyebabkan kanker. Pada sel-sel kanker program apoptosis ini telah mengalami gangguan sehingga sel akan mengalami metastasis lebih lanjut tanpa terkendali (Peter *et al.*, 1997). Apoptosis dapat diamati pada penampakan fisiologis, antara lain berupa pengkerutan sel, kerusakan pada plasma membran dan adanya kondensasi kromatin. Berbeda dengan nekrosis sel, sel-sel yang mengalami apoptosis tidak kehilangan kandungan internal sel dan tidak menyebabkan respon inflamasi. Bila program apoptosis ini telah selesai pada sebuah sel maka akan meninggalkan kepingan mati sel yang disebut badan apoptosis yang segera dapat dikenali dan dimakan oleh makrofag (Peter *et al.*, 1997).

Secara umum terdapat tiga jalur yang berpengaruh pada proses apoptosis yaitu jalur *p53-Bax*, *P13K-AKT survival*, dan *CD95/Fas* (Prendergast, 1999). Protein *p-53* merupakan protein tumor supresor dan regulator yang diaktivasi oleh adanya kerusakan DNA atau stress tertentu pada sel. Protein ini dapat memacu apoptosis melalui peningkatan ekspresi *Bax*, suatu gen yang menyandi protein *Bax* yang berperan dalam proses apoptosis. Namun peningkatan ekspresi *Bax* ini belum cukup untuk memacu proses apoptosis sehingga masih diperlukan pemacu lainnya. Dalam hal ini *Bax* bersama-sama dengan protein lainnya akan mengaktifkan sitokrom c (*cyt c*) yang dilepas dari mitokondria

dan selanjutnya akan terjadi aktivasi berantai terhadap kaspase 9, kaspase 3 sampai akhirnya terjadi apoptosis.

Jalur kedua yaitu *p13K-AKT* yang merupakan jalur pertahanan (*survival*) yang mencegah proses apoptosis. AKT merupakan suatu protein kinase yang diaktivasi oleh *p13K*, dan akan menginaktivasi *Bad* dan kaspase 9 dengan fosforilasi sehingga aktivitas *cyt c* akan terhambat. Jalur ini bisa diaktivasi oleh berbagai rangsang misalnya *integrin dependent cell adhesion*, ligasi dari IGF-1, IL-3 dan aktivasi *Ras*.

Jalur ketiga merupakan jalur yang diatur oleh suatu reseptor kematian sel (*death receptor*). Seperti *CD 95/Fas* atau yang termasuk dalam keluarga faktor kematian sel (*Tumor Necrosis Factor-Receptor, TNF-R*). Bergantung dari jenis reseptornya pengaturan negatif dari jalur ini bisa mengarah ke apoptosis atau sebaliknya. Adanya rangsang terhadap reseptor ini akan mengakibatkan aktivasi terhadap kaspase 8 yang merupakan jalur lanjut dari aktivasi kaspase 9 melalui kompleks *cyt c-Apaf-1caspase 9* (Juin *et al.*, 1999).

Kurkumin dapat memacu proses apoptosis melalui beberapa cara, misalnya dengan menekan ekspresi *Bcl2* melalui penghambatan prostaglandin seperti telah diterangkan diatas. Selain itu kurkumin dilaporkan juga mampu meningkatkan level kaspase 3 dan mengaktifkannya (Khar *et al.*, 1999). Pengaktifan kaspase 3 yang berakibat terjadinya apoptosis, disebabkan karena kurkumin dapat memacu *cyt c* dengan cara memacu terjadinya oksigen reaktif dan hilangnya potensial membran pada mitokondria (Bhaumik *et al.*, 1999). Pada penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin dapat meningkatkan ekspresi gen *p53* dan *Bax*, menurunkan *bcl2* serta lokalisasi *p21* dan *Gadd45* pada nukleus (Chen and Huang., 1998).

## KESIMPULAN

Pandangan baru aktivitas kurkumin sebagai antikanker terkait dengan mekanisme kerjanya telah memberikan gambaran secara lebih komprehensif akan kinerja kurkumin sebagai antikanker. Di masa yang akan datang kiranya penelitian tentang kurkumin sebagai antikanker akan semakin memperjelas dalam mengelucidasi mekanisme aksinya pada aras molekul, apalagi juga didukung dengan adanya percepatan ketersediaan data-data tentang mekanisme karsinogenesis oleh adanya kemajuan di bidang molekular onkologi. Diharapkan dengan mengetahui mekanisme aksi kurkumin sebagai antikanker akan membuka peluang senyawa kurkumin untuk dikembangkan sebagai obat antikanker dimasa mendatang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1988. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Pusat Data Kesehatan,.
- Barthelemy, S., L. Vergnes, M. Moynier, D. Guyot, Labidalle, and E. Bahraoui. 1998. Curcumin and curcumin derivatives inhibit Tat-mediated transactivation of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat. *Research in Virology* 149: 43-52.
- Battum S., M. Rigaud, and J.L. Beneytout. 1998. Resistance to apoptosis and cyclooxygenase expression in human adenocarcinoma cell line HT 29 CL. 19A. *Anticancer Research* 18 (15A): 3579-3583.
- Bourne, K.Z., N. Bourne, S.F. Reising, and L.R. Stanberry. 1999. Plant product as topical icrobicide candidates: assesment of *in vitro* and *in vivo* activity against herpes virus type-2. *Antiviral Research* 42 (3): 219-226.
- Chan, T.A., P.J. Morin, B. Vogelstein, and K.W. Kinzler. 1998. Mechanism underlying nonsteroidal antiinflammatory drug-mediated apoptosis. *Proceeding of the National Academic of Sciences of the United Stated of America* 95: 681-686.
- Chen, T.A., and H.C. Huang. 1998. Effect of curcumin on cell cycle progression and apoptosis in vascular smooth muscle cells. *British Journal of Pharmacology* 24 (6): 1029-1040.
- Chen, T.A., P.J. Morin, B. Vogelstein, and K.W. Kinzel. 1998. Mechanism underlying nonsteroidal antiinflammatory drug-mediated apoptosis. *Proceeding of the National Academic of Sciences of the United Stated of America* 95: 681-686.
- Classen, G.F., and S.R. Hann. 1999. Myc-mediated transformation: the repression connection. *Oncogene* 18: 2925-2933.
- Crofford, L.J. 1997 COX-1 and COX-2 Tissue expression: implication and predictions. *Journal of Rheumatology* 24; Suppl 49:15-19
- DeWitt, D.L. 1991. Prostaglandin Endoperoxide Synthase: regulation on enzyme expression. *Biochemistry and Biophysiscs Acta* 1083: 121-134.
- Di Piro, J.T., R.L. Talbert, G.V. Yee, G.R. Maatzke, B.G. Wells, and L.M. Posey. 1997. *Pharmacotherapy, A Pathophysiologic Approach*. 3rd edition. New York: Appleton & Lange.
- Dubois, R.N., S.B. Abramson, L. Crofford, R.A. Gupta, L.S. Simon, L.B. Van de Putte, and P.E. Lipsky. 1998. Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb Journal* 12: 1063-1073.
- Hanif, R., Liang Qiaro, J.S. Steven, and B. Rigas. 1997. Curcumin, a natural plant phenolic food additive, inhibits cell proliferation and induces cell cycle changes in colon adenocarcinoma cell lines by a prostaglandin-independent pathway. *Carcinogenesis* 15:951-955.
- Hong, R.L., A.B. Spohn, C. Rago, H. Hermeking, L. Zawel, L.T. Da costa, P.J. Morin, B. Vogelstein, and K.W. Kinzler, K.W. 1998. Identification of c myc as a target of the APC pathway. *Science* 281: 1509-1512.
- Huang M.T., W. Ma, Y.R. Lou, Y.P. Lu, R. Chang, H. Newmark, and A.H. Conney. 1997. Inhibitory effects of curcumin on tumorigenesis in mice. *In: Pramono, S., U.A. Jenie, S.S. Retno, and G. Didik (eds.). Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP)*, 47-60. Yogyakarta: Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University.
- Huang, M.T., Y.R. Lou, J.G. Xie, W. Ma, P.L. Yao, Y. Patricia, T.Z. Bao, H. Newmark, and T.H. Chi. 1998. Effect of dietary curcumin and dibenzoilmethane on formation of 7,2-dimethylbenz (a)anthracene-induce mammary tumours and lymphomas/leukemias in Sencar mice. *Carcinogenesis* 19 (9): 1697-1700.
- Huang, M.T., Z.W. Wang, C.A. Georgiadis, J.D. Laskin, and A.H. Conney. 1992. Inhibitory effect curcumin on tumor initiation by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis* 13: 947-954.
- Jordan, V.V. 1988 Designer estrogen. *Science America* [Oct (ed.)]: 60-67.
- Juin, P., A.O. Hueber, T. Littlewood, and G. Evan. 1999. c-myc-induced sensitization to apoptosis is mediated through cytocrom c release. *Gene & Development* 13: 1367-1381.
- Kawamori, T., R. Lubet, V.E. Steele, G.J. Kelloff, R.B. Kaskey, and C.V. Rao, and B.S. Reddy. 1999. Chemopreventive effect of curcumin, a naturally anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Research* 59: 597-601.
- Khar, A., A.M. Ali, B.V. Pardhasaradhi, Z. Begum, and R. Anjum. 1999. Antitumor activity of curcumin is mediated through the induction of apoptosis in AK-5 tumor cells. *FEBS Letters* 19: 445 (1): 165-168.
- Kinoshita, T., Y. Takahashi, T. Sakashita, H. Inoue, T. Tanabe, and T. Yoshimoto. 1999. Growth stimulation and induction of epidermal growth factor receptor by over-expression of cyclooxygenase 1 and 2 in human colon carcinoma cells. *Biochemistry and Biophysiscs Acta* 19: 1438 (1): 120-130.
- Kunchandy, E., and M.N.A. Rao. 1989. Effect of curcumin on hidroxy radical generation ththrough fenton reaction. *International Journal of Pharmaceutics* 57: 173-176.
- Kutchera, W., D.A. Jones, N. Matsunami, J. Groden, T.M. McIntyre, G.A. Zimmerman, R.L. White, and S.M. Prescott. 1996. Prostaglandin H synthase 2 is expressed abnormally in human colorectal cancer: evidence for a transcriptional effect. *Proceeding of the National Academic of Sciences of the United Stated of America* 93: 4816-4820.
- Liu, J.Y., and J.K. Lin. 1993. Inhibitory effect of curcumin on protein kinase C activity induced by 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate in NIH 2T3 cells. *Carcinogenesis* 14: 857-861.
- Majeed M., V. Badmaev, U. Shirakumar, and R. Rajendrar. 1995. *Curcuminoids Antioxidant Phytonutriens*. 3-80. Pis Catway, NJ.: Nutri Science Publisher Inc.
- Mandelson, J., P.M. Howley, M.A. Israel, and L.A. Liotta. 1995. *The Molecular Basis of Cancer*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Mazumder, A., N. Neamati, S. Sunder, J. Schultz, H. Pertz, E. Eich, and Y. Pommier. 1997. Curcumin analogs with altered potencies against HIV-1 integrase as probes for biochemical mechanisms of drug action. *Journal of Medicinal Chemistry* 40: 3057-3063.
- Meiyanto, E. 1999. Kurkumin sebagai obat kanker: Menelusuri mekanisme aksi. *Majalah Farmasi Indonesia* 10 (4): 224-236.
- O'Neill, G.P., and A.W. Ford-Hutchinson. 1993. Expression of mRNA for cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in human tissues. *FEBS Letters* 13:330 (2):156-160.
- Oetari, S., M. Sudibyo, J.N. Commandeur, R. Samhoedi, and N.P. Vermeulen. 1996. Effect of curcumin on

- cytochrom P-450 and glutation-S-transferase activities in rat liver. *Biochemical Pharmacology* 12:51 (1): 39-45.
- Peter, M.E., A.E. Houfelder, and M.O. Heugartner. 1997. Advance in apoptosis research. *Proceeding of the National Academic of Sciences of the United Stated of America* 94: 12736-12737.
- Prendergast, G.C. 1999. Mecanism of apoptosis by c-myc. *Oncogene* 18: 2961-2987.
- Rao M.N.A. 1997. Antioxidant properties of curcumin, *In: Pramono, S., U.A. Jenie, S.S. Retno, and G. Didik (eds.). Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP)*, 39-47. Yogyakarta: Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University.
- Sajithlal, G.B., P. Chithra, and G. Chandrakasan. 1998. Effect of curcumin on the advanced glication and gross-linking of collagen in diabetic rats. *Biochemical Pharmacology* 15:56 (12): 1607-1614.
- Salmon, D.J., G.M. Clark, S.G. Wong, W.J. Levin, A. Ullrich, and W.L. McGuire. 1997. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235: 177-182.
- Sano, H., Y. Kawahito, R.L Wilder, A. Hashiramoto, S. Mukai, K. Asai, S. Kimura, H. Kato, M. Kondo, and T. Hla. 1995. Expression of cyclooxygenase-1 and 2 in human colorectal cancer. *Cancer Research* 55: 3785-3789.
- Sardjiman., M.R. Samhoedi, L. Hakim, H. van der Goot, H. Timmerman. 1997. 1,5-Diphenyl-1-4-pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationships. *In: Pramono, S., U.A. Jenie, S.S. Retno, and G. Didik (eds.). Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP)*, 175-185. Yogyakarta: Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University.
- Sharma, S.C. 1976. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochemical Pharmacology* 25: 1811-1812.
- Singletary, K, C. MacDonald, Iovinelli, C. Fisher, and M. Wallig. 1998. Effect of the  $\beta$ -diketones diferuloylmethane (curcumin) and dibenzoylmethane on rat mammary DNA adducts and tumors induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis* 19 (16): 1039-1043.
- Sozeri, O., K. Vollner, M. Liyanage, D. Frith, G. Kour, G.E. Mark, and S. Stabel. 1992. Activation of the c-Raf protein kinase by protein kinase C phosphorylation. *Oncogene* 7: 2259-2262.
- Tonnesen, H.H., and J.V. Greenhill. 1992. Studies on curcumin and curcuminoids. XXII: Curcumin as a reducing agent and as a radical scavenger. *International Journal of Pharmaceutics* 87: 79-87.
- Tsujii, M., S. Kawano, S. Tsujii, H. Sawaoka, M. Hori, and R.N. Dubois. 1998. Cyclooxygenase regulated angiogenesis induced by colon cancer cells. *The Cell* 93: 705-716.
- Van der Goot H. 1997. The chemistry and qualitative structure-activity relationship of curcumin. *In: Pramono, S., U.A. Jenie, S.S. Retno, and G. Didik (eds.). Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP)*, 13-27. Yogyakarta: Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University.
- Verma, S.P., B.R. Goldin, and P.S. Lin. 1998. The inhibition of the estrogenic effects of pesticides and environmental chemicals by curcumin and flavonoids. *The Environmental Health Perspective* 106 (12): 807-812.

## PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

**Tulisan** diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm<sup>2</sup>), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tatanama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indek minus (m<sup>-2</sup>, l<sup>-1</sup>, h<sup>-1</sup>) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

**Judul** ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat berseri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian dan metode-metode khusus yang digunakan. **Pendahuluan** (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan

menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan, meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

**Pustaka** dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa pustaka, naskah yang ditulis oleh dua penulis, maka nama keduanya disebutkan, sedang naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, maka hanya nama penulis pertama ditulis diikuti *et al.* atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto *et al.*, 1998; Baker and Manwell, 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy, 1991 *cit* Coward, 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward, 1999).

**Daftar Pustaka** diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

### Jurnal:

Suranto, S., K.H. Gough, D.D. Shukla, and C.K. Pallaghy. 1998. Coat protein sequence of Krish-infected strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. *Archives of Virology* 143: 1015-1020.

### Buku:

Sprent, J.I, and P. Sprent. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects*. London: Chapman and Hall.

### Bab dalam buku:

Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman, C.G. (ed.). *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

### Abstrak:

Liu, Q., S. Salih, J. Ingersoll, R. Meng, L. Owens, and F. Hammerschlag. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. *Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science*. Lake Buena Vista, Fla., 23-26 July 2000.

### Prosiding:

Alikodra, H.S. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. Dalam: Setyawan, A.D. dan Sutarno (ed.). *Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa*. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

### Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko, T. 2001. *Biotransformasi Isoflavon oleh Rhizopus oryzae UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai* [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.

### Informasi dari Internet:

Rosauer, D. 1998. *Forest Disturbance and Succession*. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

**Beberapa catatan tambahan.** Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "o" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\chi$ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

**Kemajuan Naskah.** Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

**PENTING:** Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok setuju memindahkan hak cipta (*copyright*) naskah yang diterbitkan *Biofarmasi, Journal of Pharmacological and Biological Sciences* kepada Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Penulis tidak lagi diperkenankan menerbitkan naskah secara utuh tanpa ijin penerbit. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

- Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh.** 45-52  
• TRI HANDAYANI, SUTARNO, AHMAD DWI SETYAWAN
- Sintesis Kopoli(Eugenol-DVB) Sulfonat dari Eugenol Komponen Utama Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)** 53-57  
• DESI SUCI HANDAYANI, TRIANA KUSUMANINGSIH, MARIA YULI
- Sintesis Senyawa Komponen Parfum Etil *p*-Anisat dari Anetol** 58-63  
• TRIANA KUSUMANINGSIH, DESI SUCI HANDAYANI, ANDI MAKRUF
- Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Acatina fulica*)** 64-68  
• TRIANA KUSUMANINGSIH, ABU MASYKUR, USMAN ARIEF
- Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Naftalen Asetat terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]** 69-74  
• ARIF HARDIYANTO, SOLICHA TUN, WIDYA MUDYANTINI
- REVIEW: Pandangan Baru Kurkumin dan Aktivitasnya sebagai Antikanker** 75-80  
• ARIEF NURROCHMAD

