

Bidang ilmu: Kimia



**LAPORAN
PENELITIAN BERSAMA DOSEN DAN MAHASISWA**

**KARAKTERISASI DAN STUDI IKATAN ADSORPSI
MERKURI (II) PADA BIOMASSA DAUN
ENCENG GONDOK (*Eichornia crassipes*)**

TRI KUSTONO ADI, M.Sc
HIMMATUL BARROROH, M.Si
FAIJAL FACHRUDIN M.
FARIS APRILIANSYAH

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2010

LEMBAR PENGESAHAN

PENELITIAN BERSAMA DOSEN-MAHASISWA

1. Judul Penelitian Hibah : **Karakterisasi dan Studi Ikatan Adsorpsi Merkuri (II) pada Biomassa Enceng Gondok (*Eichornia crassipes*)**
2. Bidang Ilmu : Kimia
3. Judul Skripsi :
- (1). **Studi Spektra IR Terhadap Interaksi Situs Aktif Asam Amino –Hg²⁺ Pada Preparasi Biomassa Daun Enceng Gondok Dengan Metode QM-MM Ab Initio**
- (2). **Karakterisasi Sifat Permukaan Biosorben Enceng Gondok (*Eichornia crassipes*)**
4. Nama Dosen:
- Ketua : Tri Kustono Adi, M.Sc. (NIP: 197103112003121002)
- Anggota : Himmatul Barroroh, M.Si (NIP: 197507302003122001)
- Mahasiswa : Faijal Fachrudin Mbabho (NIM: 04530018)
- : Faris Apriliansyah (NIM: 07630046)
5. Jurusan/prodi Asal : Kimia
6. Lama Kegiatan : 6 Bulan

Malang, 30 Desember 2010

Disahkan oleh:
Dekan,

Ketua Pengusul,

Prof. Sutiman B. Sumitro, SU, D.Sc
NIP. 130809123

Tri Kustono Adi, M.Si
NIP. 197103112003121002

Mengetahui,
Ketua Lemlitbang UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,

Dr. Ulfah Utami, M.Si.
NIP. 196505091990032002

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT karena atas rahmat, taufiq dan hidayah-nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan penelitian dengan judul: **Karakterisasi dan Studi Ikatan Adsorpsi Merkuri (II) pada Biomassa Enceng Gondok (*Eichornia crassipes*)**.

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penelitian ini, untuk itu ucapan terimah kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, terutama kepada

- Prof. Dr. H. Imam Suprayogo, selaku rector Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Prof. Drs Sutiman Bambang Sumitro, SU., D.Sc selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Dr. Ulfah Utami, M.Si, selaku Ketua Lemlitbang UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Diana Candra Dewi, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Koordinator laboratorium Kimia UIN malang dan Laboratorium Informatika beserta staf, terimah kasih atas kesediaannya memberikan tempat dan meminjamkan peralatan selama penelitian.
- Segenap rekan dosen, laboran dan mahasiswa serta semua pihak yang tak dapat kami sebutkan satu per satu.

Penelitian ini tentunya masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran demi perbaikan tulisan ini. Akhirnya, semoga hasil penelitian ini dapat menjadi sumber informasi yang bermanfaat bagi semua pihak. Amin.

Malang, Desember 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
ABSTRAK.....	vi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Merkuri	7
2.2 Enceng Gondok.....	9
2.3 Mekanisme Transport Hg ²⁺	12
2.4 Dugaan Interaksi Hg ²⁺ - Protein	13
2.4.1 Dugaan Interaksi Hg ²⁺ - Protein Berdasarkan Variasi pH	13
2.4.2 Dugaan Interaksi Hg ²⁺ - Protein Berdasarkan Spectra Inframerah.....	18
2.4.3 Interaksi Hg ²⁺ dengan Gugus Sistein.....	20
2.5 Adsorpsi	22
2.6 Pemodelan Molekuler	25
2.6.1 QM/MM.....	26
2.7 Sifat Permukaan	32
2.7.1 Struktur Pori.....	32
2.7.2 Analisa Ruang.....	33
2.8 SEM (Scanning Electron Microscope)	34

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Dan Waktu Penelitian.....	40
3.2 Bahan	40
3.3 Alat.....	41
3.4 Rancangan Penelitian.....	42
3.5 Cara Kerja.....	44
3.6 Analisa Data.....	48

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Biomassa Daun Enceng Gondok.....	51
4.2 Karakter Vibrasi IR pada Enceng Gondok Basah atau Enceng Gondok Segar Sebelum Dilakukan Proses Preparasi dan Sesudah di Oven 90° C	52
4.3 Kadar Protein Kasar Daun Enceng Gondok Basah dan Enceng Gondok Setelah di Oven 90° C.....	58
4.4 Uji Kualitatif Protein Terlarut pada Filtrat atau Eluen Setelah Dicuci dengan HCl 0,01 M	62
4.5 Karakterisasi Permukaan dan Distribusi Pori Biomassa Enceng Gondok Setelah Dicuci dengan HCl 0,01M.	64
4.6 Karakteristik Vibrasi IR Pemodelan Interaksi Situs Aktif Biomassa dengan Hg ²⁺ Metode QM/MM pada Level Teori RHF/STO-3G AMBER dan Hg ²⁺ menggunakan basis set LANL2DZ ECP	70

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	77
5.2 Saran	79

DAFTAR PUSTAKA..... 80

LAMPIRAN

ABSTRAK

Tri Kustono Adi., Himmatul Barroroh, Fajjal Fachrudin M., Faris A., **Karakterisasi dan Studi Ikatan Adsorpsi Merkuri (II) pada Biomassa Enceng Gondok (*Eichornia crassipes*).**

Kata Kunci: karakterisasi, interaksi, adsorpsi, enceng gondok, merkuri (II)

Penelitian tentang studi interaksi situs aktif pada permukaan adsorben enceng gondok dengan ion logam merkuri (II) belum pernah dilakukan demikian juga dengan karakterisasi permukaannya. Penelitian ini akan meneliti perubahan-perubahan yang diindikasikan oleh protein biomassa enceng gondok pada setiap perlakuan preparasi biomassa serta karakterisasi sifat permukaannya, kemudian akan dikaji studi karakteristik spektra IR pemodelan interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} melalui metode kimia komputasi QM-MM pada level teori RHF/STO-3G untuk selain atom Hg^{2+} dan LANL2DZ ECP untuk Hg^{2+} - AMBER.

Penelitian ini meliputi penentuan karakteristik gugus fungsional spektra IR, jumlah N total protein pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar sebelum dilakukan proses preparasi dan penentuan karakteristik gugus fungsional spektra IR dan jumlah N total protein pada enceng gondok setelah di oven 90 °C. Kemudian selanjutnya penentuan protein terlarut pada filtrat atau eluen enceng gondok setelah sampel dicuci dengan HCl 0,01 M dan karakterisasi sifat permukaan dengan mikroskop optik dan SEM. Karakteristik spektra IR pemodelan interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} metode QM-MM pada level teori RHF/STO-3G AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP.

Hasil analisis karakter ikatan yang diperoleh dari spektra IR daun enceng gondok sebelum dan sesudah pemanasan 90° C diperkirakan bahwa tidak terjadi kerusakan pada protein beserta gugus-gugus aktif pada asam amino, hal ini dibuktikan dengan masih adanya serapan gugus fungsi asam amino yaitu pada bilangan gelombang 2926,78 cm^{-1} adalah uluran C-H alifatik. C=O pada bilangan gelombang 1735,81 cm^{-1} , bilangan gelombang 1248,82 cm^{-1} uluran C-N amina. Bilangan gelombang daerah finger print yaitu uluran C-C pada bilangan gelombang 614,29 cm^{-1} , pada bilangan 665,40 cm^{-1} yaitu tekukan N-H. Bilangan gelombang 567,03 cm^{-1} dan 523,64 cm^{-1} yaitu uluran N-H. Perbandingan kandungan N total dan protein terlarut pada daun enceng gondok, menunjukkan bahwa tidak terjadinya penurunan protein akibat proses pemanasan 90° C. Analisis distribusi pori dengan mikroskop optik dan SEM menunjukkan bahwa pori biomassa enceng gondok termasuk dalam kategori makropori pada range *small macropore* (10-30 μm) dan *medium macropore* ($\pm 100 \mu m$). Munculnya serapan sedang spektra vibrasi komputasi pada panjang gelombang 367,03 cm^{-1} mengkonfirmasi spektra eksperimen 450-350 cm^{-1} yang menunjukkan adanya uluran S-Hg-S.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam kehidupan sehari-hari sering ditemukan berbagai masalah, mulai dari masalah sosial dan ekonomi seperti: masalah dalam keluarga, lingkungan tetangga atau masyarakat, masalah pengangguran, kemiskinan, kesehatan dan sebagainya. Selain itu ada juga masalah yang bersifat fisik yang merupakan lingkungan hidup manusia. Masalah-masalah yang berhubungan dengan lingkungan fisik saat ini antara lain adalah pencemaran lingkungan dengan segala dampak yang ditimbulkannya.

Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) (QS. Ar ruum, 30:41).

Kerusakan yang terjadi di muka bumi sebagai akibat dari perbuatan manusia dalam menggunakan merkuri, pada umumnya berasal dari limbah industri pertambangan emas. Pencemaran merkuri akibat pertambangan emas yang tidak terkontrol telah terjadi di berbagai wilayah Indonesia. Keadaan merkuri di lingkungan akan membahayakan kesehatan manusia, seperti logam berat lainnya.

Kemajuan yang sangat pesat dari teknologi yang diciptakan oleh manusia telah memberikan banyak kemudahan bagi manusia. Sebagai contoh, kemajuan dalam bidang teknologi kimia, yang diungkapkan dengan penemuan pestisida. Melalui penemuan pestisida yang merupakan obat pemberantas hama pertanian, manusia dapat menikmati hasil pertanian dalam jumlah besar, karena hama menjadi pengganggu dan penyebab kerusakan tanaman pertanian telah dapat diatasi dengan menggunakan pestisida tersebut. Contoh lain adalah teknologi elektrik dan elektronik.

Perkembangan teknologi di bidang elektrik telah merangsang pertumbuhan pabrik-pabrik elektronik seperti cendawan tumbuh di musim hujan. Banyak sekali kemudahan bagi manusia, karena dengan pengolahan dan segala macam bentuk pengembangan yang dapat dibuatnya, teknologi elektrik telah dapat dinikmati bahkan sampai dalam rumah mereka. Sebut saja, lampu listrik, seterika listrik, kulkas, dan televisi. Toksikant yang sangat berbahaya umumnya berasal dari buangan industri, terutama industri kimia (produk dari industri pestisida) dan industri yang melibatkan logam berat (Hg, Cd, Pb, Cu, dan Cr) dalam proses produksinya (Heryando 2004).

Logam berat masih termasuk golongan logam dengan kriteria-kriteria yang sama dengan logam-logam lain. Perbedaannya terletak dari pengaruh yang dihasilkan bila logam berat ini berikatan dan atau masuk ke dalam tubuh organisme hidup. Sebagai contoh, bila unsur logam besi (Fe) masuk ke dalam tubuh, meski jumlahnya agak berlebihan, biasanya tidaklah menimbulkan pengaruh yang buruk terhadap tubuh, karena unsur besi (Fe) di butuhkan dalam darah untuk mengikat oksigen. Sedangkan unsur logam berat baik itu logam berat beracun yang dipentingkan seperti tembaga (Cu), bila masuk ke dalam tubuh dalam jumlah berlebihan akan menimbulkan pengaruh-pengaruh buruk terhadap fungsi fisiologis tubuh. Jika yang masuk ke dalam tubuh organisme hidup adalah unsur logam berat beracun seperti hidrargyrum (Hg) atau di sebut juga air raksa, maka dapat dipastikan bahwa organisme tersebut akan langsung keracunan (Heryando 2004).

Pengembangan metode untuk menghilangkan keberadaan logam-logam berat di lingkungan lebih banyak difokuskan pada pengembangan metode yang bersifat ramah lingkungan. Metode adsorpsi merupakan metode pengolahan air limbah yang cukup unggul di bandingkan yang lain (penukar ion, proses reduksi, koagulan). Serta mampu menghilangkan bahan-bahan organik (Gupta, 1988). Penggunaan bahan

organik sebagai adsorben saat ini banyak dikembangkan karena teknik-teknik ini tidak memerlukan biaya tinggi dan sangat efektif untuk menghilangkan kontaminan logam-logam berat di lingkungan (Saleh, 2004).

Salah satu bahan organik yang digunakan sebagai adsorben adalah biomassa dari tumbuhan enceng gondok yang telah mati. Kemampuan biomassa enceng gondok telah terbukti dalam mengadsorpsi sejumlah ion logam seperti merkuri. Rangkaian penelitian seputar kemampuan eceng gondok oleh peneliti Indonesia antara lain oleh Widyanto dan Susilo (1977) yang melaporkan dalam waktu 24 jam eceng gondok mampu menyerap logam kadmium (Cd), merkuri (Hg), dan nikel (Ni), masing-masing sebesar 1,35 mg/g, 1,77 mg/g, dan 1,16 mg/g bila logam itu tak bercampur. Eceng gondok juga menyerap Cd 1,23 mg/g, Hg 1,88 mg/g dan Ni 0,35 mg/g berat kering apabila logam-logam itu berada dalam keadaan tercampur dengan logam lain. Lubis dan Sofyan (1986) menyimpulkan logam krom (Cr) dapat diserap oleh eceng gondok secara maksimal pada pH 7, dalam penelitiannya, logam Cr semula berkadar 15 ppm turun hingga 51,85 persen.

Metode adsorpsi menggunakan biomassa merupakan metode yang efektif dalam mengikat ion logam berat, baik anionik maupun kationik, bahkan pada konsentrasi pada ion logam yang sangat rendah. Selain itu, biomassa merupakan bahan yang dapat diregenerasi dan bersifat biodegradable, sehingga bersifat ramah lingkungan.

Salah satu senyawa yang berpotensi memiliki dua gugus aktif kationik dan anionik adalah protein. Molekul protein memiliki gugus amino yang dapat terprotonasi menjadi gugus amonium (kationik) dan gugus karboksil yang dapat terdeprotonasi menjadi gugus karboksilat (anionik). Selain terdapat pada binatang

(protein hewani), protein juga terdapat pada tumbuhan (protein nabati). Hal ini mendorong banyaknya penelitian yang memanfaatkan biomassa tumbuhan yang telah mati, terutama yang berprotein tinggi, sebagai pengikat logam kationik maupun anionik dari media air. Enceng gondok segar memiliki kandungan N total sebesar 0,28% (Hernowo, 1999).

Ayubi (2008) menduga bahwa situs-situs aktif biomassa daun enceng gondok yang berperan mengadsorpsi logam Hg^{2+} merupakan protein yang mempunyai satuan-satuan asam amino sebagai penyusunnya. Interaksi antara Hg^{2+} dan adsorben biomassa daun enceng gondok terjadi karena adanya gaya elektrostatis antara muatan negatif adsorben yang bertindak sebagai situs aktif dengan muatan positif dari ion logam. Ion logam terutama logam transisi dapat membentuk ikatan senyawa asam amino karena adanya elektron bebas yang terdapat pada atom oksigen pada gugus fungsional senyawa asam amino berupa $-COOH$ setelah terdeprotonasi. Protein dan polisakarida memegang peranan yang sangat penting dalam proses biosorpsi ion logam berat dimana ikatan kovalen juga terjadi dengan gugus amino dan grup karbonil (Suhendrayatna, 2004).

Ayubi (2008) menjelaskan bahwa penyerapan merkuri (II) dengan menggunakan biomassa daun enceng gondok sebesar 0,1 gram dan telah diaktivasi dengan HCl 0,01 M, memiliki kapasitas adsorpsi sebesar $4,806 \times 10^{-5}$ mol/gr dengan konstanta adsorpsi sebesar $27130,85 \text{ (mol/L)}^{-1}$ dan energi adsorpsi sebesar 25,460 kJ/mol pada pH optimum 6 dan waktu pengocokan selama 60 menit.

Kemampuan adsorpsi sangat dipengaruhi oleh sifat bahan, selain situs aktif permukaannya, juga luas permukaan dan struktur pori bahan, penelitian tentang sifat fisik permukaan adsorben enceng gondok belum pernah dilakukan, oleh karena itu

dalam penelitian ini akan dikaji struktur dan sifat permukaan biomassa enceng gondok, serta pemodelan interaksi antara situs aktif biomassa dengan ion logam merkuri (II) dari data spektra infra merah. Penelitian ini akan meneliti perubahan-perubahan yang diindikasikan oleh protein biomassa enceng gondok pada setiap perlakuan preparasi biomassa, kemudian dikarakterisasi sifat fisik permukaannya meliputi luas permukaan, distribusi pori dan keasaman permukaan, serta akan dikaji pemodelan interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} melalui spectra infra merah dengan metode kimia komputasi QM-MM.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan diatas maka dapat diambil suatu rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah karakteristik struktur dan sifat permukaan biomassa enceng gondok?
2. Bagaimanakah interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} melalui pemodelan spectra infra merah dengan metode QM-MM pada level teori RHF/ LANL2 DZ ECP-AMBER?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan informasi tentang karakteristik struktur dan sifat permukaan biomassa enceng gondok.
2. Memperoleh model interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} melalui pemodelan spektra infra merah dengan metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan :

1. Memberikan kontribusi informasi tentang karakteristik struktur dan sifat permukaan biomassa enceng gondok?
2. Memberikan alternative model interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+}

1.5 Batasan Masalah

1. Biomassa enceng gondok yang digunakan adalah bagian daunnya
2. Karakterisasi sifat fisik permukaanya meliputi jumlah nitrogen kasar, deskripsi permukaan, dan distribusi pori.
3. Pemilihan situs aktif enceng gondok yang digunakan dalam pemodelan dilakukan berdasarkan studi literatur.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Merkuri

Merkuri adalah unsur logam yang mempunyai nomor atom ($NA = 80$) serta mempunyai massa molekul relatif ($Mr = 200,59$) dengan konfigurasi elektron $[Xe] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2$ (Ebadian, 2001). Merkuri diberi simbol Hg yang merupakan singkatan yang berasal dari bahasa Yunani *hydrargyricum*, yang berarti cairan perak. Merkuri sangat sedikit ditemukan dalam bentuk logam, mineral-mineral merkuri paling banyak ditemukan sebagai sulfida merkuri (cinnabar), dan sebagian kecil pada mineral korderoid (Hg_3S_2Cl), livingstonit ($HgSb_4S_7$), montroyidit (HgO), tertringualit (Hg_2OCl), kalomel ($HgCl$) (Kirk and Otmer, 1981).

Merkuri (Hg) sebagai unsur berbentuk cair keperakan pada suhu kamar. Merkuri oleh Clarkson dalam Alfian (2006) dapat digolongkan sebagai merkuri anorganik dan merkuri organik. Merkuri anorganik misalnya garam merkurous (Hg_2Cl_2) dan garam merkuri ($HgCl_2$). Merkuri anorganik pada tahap pengoksidaan, Hg^{2+} adalah lebih reaktif karena dapat membentuk kompleks dengan ligan organik, terutama golongan sulfurhidril. $HgCl_2$ sangat larut dalam air dan sangat toksik, sebaliknya $HgCl$ tidak larut dan kurang toksik. Contoh dari merkuri organik antara lain senyawa alkil merkuri (CH_3HgCl), senyawa aril merkuri (C_6H_5HgCl) dan senyawa alkoksiaril merkuri (CH_3OCH_2HgCl). Senyawa

merkuri organik dianggap lebih berbahaya dan dapat larut dalam lapisan lemak pada kulit yang menyelimut korda saraf (Alfian, 2006).

Sifat senyawa HgCl_2 yang lain adalah sangat larut dalam alkohol, eter dan larut dalam asam asetat (Kaye, 1973). Merkuri (II) klorida dapat terbentuk oleh campuran dua unsur dasar, Hg dan Cl_2 menurut persamaan reaksi (Sugiyarto, 2003):



Merkuri dan turunannya mempunyai sifat yang sangat beracun, sehingga kehadirannya di lingkungan perairan dapat mengakibatkan kerugian pada manusia karena sifatnya yang mudah larut dan terikat dalam jaringan tubuh organisme air. Pencemaran merkuri di perairan mempunyai pengaruh terhadap ekosistem setempat yang disebabkan oleh sifatnya yang stabil dalam sedimen, kelarutannya yang rendah dalam air dan kemudahannya diserap dan terkumpul dalam jaringan tubuh organisme air, baik melalui proses *bioaccumulation* maupun *biomagnification* yaitu melalui *food chain* (Budiono, 2003).

Merkuri mempunyai sifat yang sangat beracun, maka U.S. Food and Administration (FDA) menentukan pembakuan atau Nilai Ambang Batas (NAB) kadar merkuri yang ada dalam jaringan tubuh badan air, yaitu sebesar 0,005 ppm. Nilai ambang batas yaitu suatu keadaan dimana suatu larutan kimia, dalam hal ini merkuri dianggap belum membahayakan bagi kesehatan manusia. Kadar merkuri jika sudah melampaui NAB dalam air atau makanan, maka air maupun makanan yang diperoleh dari tempat tertentu harus dinyatakan berbahaya. NAB air yang mengandung merkuri total 0,002 ppm baik digunakan untuk perikanan (Budiono,

2003). Pedoman buku mutu lingkungan menjelaskan bahwa, kadar merkuri pada makanan yang dikonsumsi langsung maksimum sebesar 0,001 ppm. Kadar merkuri yang aman dalam darah maksimal 0,04 ppm. Kadar merkuri sebesar 0,1-1 ppm dalam jaringan sudah dapat menyebabkan munculnya gangguan fungsi tubuh (Anonymous, 2008).

2.2 Enceng Gondok

Enceng gondok di Indonesia pada mulanya diperkenalkan oleh kebun raya Bogor pada tahun 1894 yang akhirnya berkembang di sungai Ciliwung sebagai tanaman pengganggu. Menurut Lawrence (1964) dan Moenandir (1990) dalam Hernowo (1999), enceng gondok secara botanis mempunyai sistematika sebagai berikut:



Gambar 2.1 Enceng Gondok

(Rudi, 2003)

Divisio : *Embryophytasi Phonogama*

Sub Divisio : *Spermathopyta*

Klas : *Monocotyledoneae*

Ordo : *Ferinosae*

Famili : *Pontederiaceae*

Genus : *Eichhornia*

Spesies : *Eichhornia Crassipes (Mart) Solm.*

Enceng gondok merupakan herba yang mengapung, menghasilkan tunas yang merayap yang keluar dari ketiak daun yang dapat tumbuh lagi menjadi tumbuhan baru dengan tinggi 0,4-0,8 cm, tumbuhan ini memiliki bentuk fisik berupa daun-daun yang tersusun dalam bentuk radikal (roset). Setiap tangkai pada helaian daun yang dewasa memiliki ukuran pendek dan berkerut. Helaian daun (lamina) berbentuk bulat telur lebar dengan tulang daun yang melengkung rapat, panjangnya 7-25 cm, warna daun hijau licin mengkilat (Hernowo, 1999).

Lebih lanjut, Masan (1981) dalam Hernowo (1999) menerangkan, bahwa kerangka bunga berbentuk bulir, bertangkai panjang, berbunga 10-35 cm, tangkai dengan dua daun pelindung yang sangat dekat, yang terbawah dengan helaian 4 kecil dan pelepah yang berbentuk tabung dan bagian atas juga berbentuk tabung. Poros bulir sangat bersegi, tabung tenda bunga 1,5-2 cm panjangnya dengan pangkal hijau dan ujung pucat. Tajuk sebanyak 6 masing-masing tidak sama ukurannya, panjang 2-3 cm, tajuk belakang yang terbesar dengan noda ditengah-tengah berwarna kuning cerah. Benang sari 6, bengkok, tiga dari benang sari tersebut lebih besar dari yang lain.

Bakal buah beruang tiga dan bersisi banyak. Tangkai daun pada enceng gondok bersifat mendangkalkan dan membangun spon yang membuat tumbuhan ini mengambang. Enceng gondok berkembang biak dengan stolon (vegetatif) dan juga secara generatif. Perkembangbiakan secara vegetatif mempunyai peranan penting dalam pembentukan koloni (Hernowo, 1999).

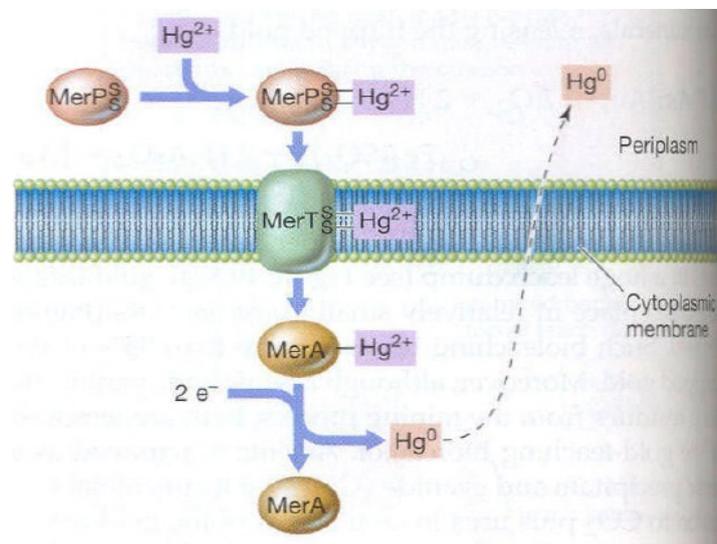
Muramoto dan Oki (1997) dalam Hernowo (1999) menjelaskan, bahwa Enceng gondok dapat digunakan untuk menghilangkan polutan, karena fungsinya sebagai sistem filtrasi biologis, menghilangkan nutrien mineral, serta untuk menghilangkan logam berat seperti cuprum, aurum, cobalt, strontium, merkuri, timah, kadmium dan nikel.

Daun enceng gondok diduga memiliki asam amino sebagai situs aktif dalam proses adsorpsi, hal ini didukung dengan hasil analisa kimia dari Enceng gondok dalam keadaan segar diperoleh bahwa kadar N total 0,28%, bahan organik 36,59% C organik 21,23% P total 0,0011% dan K total 0,016% (Hernowo, 1999). Enceng gondok selama ini lebih dikenal sebagai tanaman gulma. Padahal, enceng gondok sebenarnya mempunyai kemampuan menyerap logam berat. Kemampuan ini telah diteliti di laboratorium Biokimia, Institut Pertanian Bogor, dengan hasil yang sangat luar biasa. Penelitian daya serap enceng gondok dilakukan terhadap besi (Fe) tahun 1999 dan timbal (Pb) pada tahun 2000 (Hasim, 2007).

Penelitian seputar kemampuan enceng gondok dalam menyerap logam berat juga telah dilakukan oleh para pakar. Widyanto dan Susilo (1977) dalam Hasim (2007), melaporkan, dalam waktu 24 jam enceng gondok hidup mampu menyerap logam kadmium (Cd), merkuri (Hg), dan nikel (Ni), masing-masing sebesar 1,35 g/g, 1,77 g/g, dan 1,16 g/g bila logam itu tak tercampur. Enceng gondok juga menyerap Cd 1,23 g/g, Hg 1,88 g/g dan Ni 0,35 g/g berat kering apabila logam-logam itu berada dalam keadaan tercampur dengan logam lain 2000 (Hasim, 2007).

2.3 Mekanisme Transport Hg^{2+}

Menurut Nascimento dan Chartone Souza (2003), transport ion merkuri (HgCl_2) bagian luar sel dengan penyaluran protein, yang mana membantu mengikat Hg^{2+} dengan protein merP yang berada di dalam periplasmik. Hg^{2+} kemudian ditransfer ke merT protein membran sitoplasmik, dan pada akhirnya menuju ke situs aktif dari merA (reduksi merkuri) (Elza, 2008).



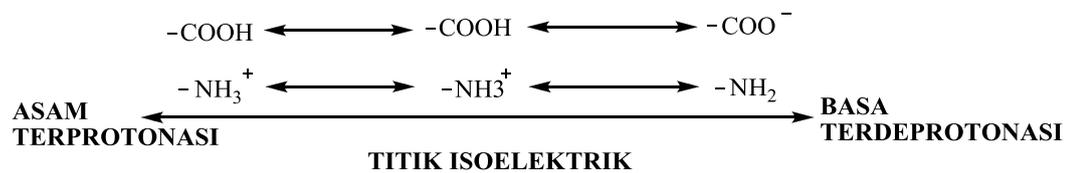
Gambar 2.1 Mekanisme Transport dan Reduksi dari Hg^{2+}

MerP adalah protein periplasmik sebagai pengikat Hg (II) pada sel periplasmik dan merT adalah protein yang terdapat pada membran sel sebagai transport Hg (II), kedua protein ini mempunyai sifat yang berbeda. merP adalah protein globular dan larut dalam air sedangkan merT adalah protein membran sel tidak larut dalam air atau bersifat hidrofobik (Oppella, Stanley, 1998).

2.4. Dugaan Interaksi Hg^{2+} - Protein

2.4.1 Dugaan Interaksi Hg^{2+} - Protein Berdasarkan Variasi pH

Efektivitas interaksi antara ion logam dengan senyawa asam amino sangat tergantung terhadap spesifikasi gugus yang dikandungnya dalam larutan. Gugus fungsional $-\text{COOH}$ dan $-\text{NH}_2$ yang dimiliki asam amino ini memiliki spesifikasi yang berbeda pada pH tertentu. Spesifikasi gugus fungsional $-\text{COOH}$ dan $-\text{NH}_2$ dapat dilihat pada gambar 2.15 (Al Ayubi 2008).



Gambar 2.2 Spesifikasi Gugus Aktif Pada Asam Amino

(Lehninger, 1982)

Akibat hadirnya ion H^+ , gugus-gugus yang terdapat dalam protein biomassa daun enceng gondok akan mengalami protonasi dan memiliki muatan positif yang sangat reaktif terhadap spesiasi dalam bentuk anion dan akibat hadirnya ion OH^- gugus-gugus yang dimiliki protein biomassa daun enceng gondok mengalami deprotonasi dan memiliki muatan negatif yang sangat reaktif terhadap spesiasi logam dalam bentuk kation, seperti halnya Hg^{2+} akan teradsorpsi oleh biomassa daun enceng gondok pada saat gugus-gugus aktif pada biomassa daun enceng gondok mengalami deprotonasi (Al Ayubi 2008).

Spesiasi gugus pada asam amino dipengaruhi oleh titik isoelektrik yang dimiliki oleh asam amino. Dengan mengetahui titik isoelektrik dapat diramalkan muatan dari asam amino akibat protonasi atau deprotonasi pada tiap-tiap perubahan pH larutan. Pada titik isoelektrik asam amino akan membentuk zwitterion yang bersifat mengion sempurna ($^+\text{NH}_3 - \text{CHR} - \text{COO}^-$), akan tetapi tidak mempunyai muatan total, dibawah ini adalah tabel titik isoelektrik beberapa asam amino (Lehninger, 1982)

Tabel. 2.1 Beberapa Titik Isoelektrik Asam Amino

Asam Amino	Titik Isoelektrik
Glisin	5,97
Leusin	5,98
Serin	5,68
Glutamine	5,65
Sistein	5,05
Tirosin	5,63
Valin	5,96
Asparagin	5,41
Metionin	5,74
Fenilalanin	5,50
Triptafan	5,89

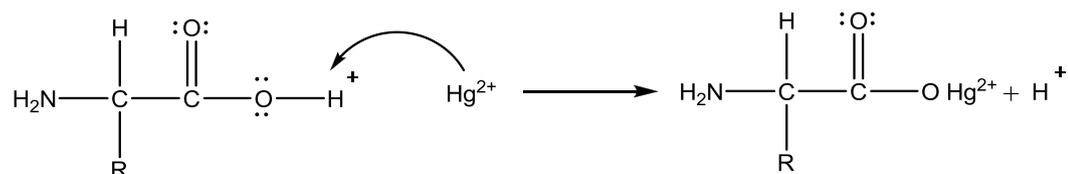
Data titik isoelektrik berbagai macam asam amino dapat membantu untuk memprediksikan kandungan asam amino pada biomassa daun enceng gondok yang berfungsi sebagai situs aktif pengikat Hg^{2+} . Memprediksikan kandungan asam amino dilakukan dengan cara mencari senyawa asam amino yang memiliki titik isoelektrik kurang atau sama dengan 6, karena pH 6 merupakan pH optimum adsorpsi merkuri pada biomassa daun enceng gondok (Al Ayubi 2008).

Jenis penelitian Al Ayubi dapat disimpulkan bahwa asam-asam amino yang mungkin berperan sebagai situs aktif adalah Glisin, Leusin, Serin,

Glutamine, Sistein, Tirosin, Valin, Asparagin, Metionin, Prolin, Fenilalanin, Triptafan. Mekanisme pembentukan ikatan antara ion logam Hg^{2+} dengan situs aktif pada biomassa daun enceng gondok terjadi pada gugus $-\text{COOH}$ dari asam amino yang bertindak sebagai situs aktif untuk pembentukan ikatan dengan ion logam dan selanjutnya membentuk ikatan stabil, sehingga semakin kaya dengan gugus amino kemampuan adsorben untuk mengadsorbsi akan semakin tinggi (Kurita, 1979), dalam (Mohadi, 2004) ikatan yang terjadi antara ion logam dengan biomassa organik menurut Narsito (2006) mempunyai empat kemungkinan yaitu pertukaran ion (lemah dan kuat), ikatan hidrogen, ikatan kompleks dan pemerangkapan. Ikatan yang terjadi antara ion logam Hg^{2+} dengan biomassa enceng gondok menurut hipotesis Al Ayubi (2008) mempunyai empat kemungkinan sesuai dengan hipotesis Narsito sebagai berikut (Al Ayubi 2008):

A. Mekanisme Pertukaran Ion

Mekanisme pertukaran kation berlangsung ketika terjadi pertukaran kation yang terdapat pada biomassa dengan logam yang bermuatan. Gambar 2.16 menyajikan perkiraan mekanisme pertukaran kation. Pada mekanisme ini terjadi pertukaran kation Hg^{2+} menggantikan ion H^+ (Al Ayubi 2008).

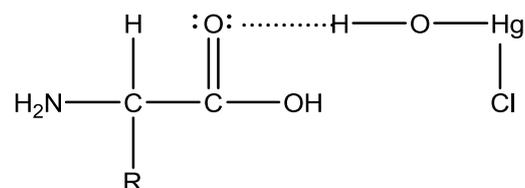


Gambar 2.3 Mekanisme Dugaan Pertukaran Ion Antara Biomassa Dengan Hg^{2+}

Mekanisme pertukaran ion ini terjadi pada saat gugus-gugus karboksilat (COOH) pada asam-asam amino mengalami deprotonasi akibat hadirnya ion hidroksida (OH⁻), sehingga gugus karboksilat berubah menjadi bermuatan negatif (COO⁻) yang sangat reaktif untuk berikatan dengan Hg²⁺ (Al Ayubi 2008).

B. Mekanisme Ikatan Hidrogen

Mekanisme pembentukan ikatan hidrogen memberikan peran yang sangat besar, karena logam Hg²⁺ berada dalam keadaan terkomplekskan dengan OH. Ikatan hidrogen terjadi antara dua atom yang memiliki elektronegatifitas yang tinggi dengan hidrogen yang bersifat prototik. Oleh sebab itu adsorpsi logam Hg²⁺ pada biomassa dalam medium air, mekanisme pembentukan ikatan hidrogen diperkirakan memberi kontribusi terbesar. Mekanisme yang terjadi dapat diperkirakan seperti pada gambar 2.17 berikut (Al Ayubi 2008):



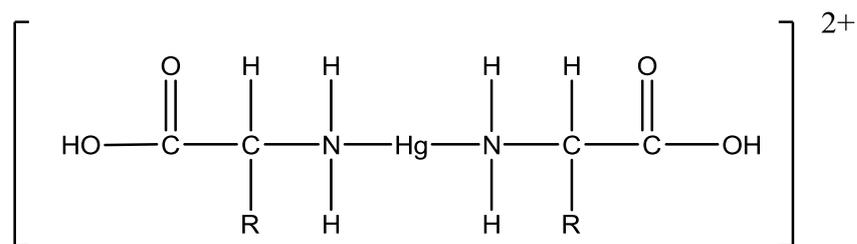
Gambar 2.4 Mekanisme Dugaan Ikatan Hidrogen Antara Biomassa Dengan Hg²⁺

Interaksi yang mungkin terjadi pada proses adsorpsi merkuri (II) oleh biomassa daun enceng gondok adalah ikatan hidrogen, hal ini disebabkan spesiasi Hg²⁺ dari HgCl₂ pada pelarut air berbentuk Hg(OH)Cl (Cotton, 1989), sehingga pengikatan merkuri (II) oleh biomassa bukan hanya terjadi pada atom logamnya saja akan

tetapi juga dimungkinkan berikatan dengan atom H pada gugus –OH dengan ikatan hidrogen (Al Ayubi 2008).

C. Mekanisme Ikatan Kompleks

Mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara logam Hg^{2+} dengan biomassa mungkin terjadi, karena ion Hg^{2+} memiliki bilangan koordinasi 4 akan tetapi meskipun merkuri (II) memiliki bilangan koordinasi 4, dua ikatan terkadang lepas sehingga ligan yang terikat hanya 2, bentuk kompleksnya linear (Paul Larkin, 1965). Dugaan pembentukan ikatan kompleks antara biomassa dengan Hg^{2+} diperkirakan seperti pada gambar 2.18 berikut (Al Ayubi 2008):



Gambar 2.5 Mekanisme Dugaan Ikatan Kompleks Antara Biomassa Dengan Hg^{2+}

D. Mekanisme Pemerangkapan

Mekanisme pemerangkapan terjadi pada saat molekul adsorbat (merkuri (II)) terperangkap di dalam adsorben (biomassa). Proses ini tidak melibatkan interaksi kimia atau tidak terjadi perubahan sifat kimia dari masing-masing komponen. Logam yang terperangkap akan sangat mudah untuk dilepaskan. Dugaan interaksi pemerangkapan seperti pada gambar 2.19 berikut (Al Ayubi 2008):

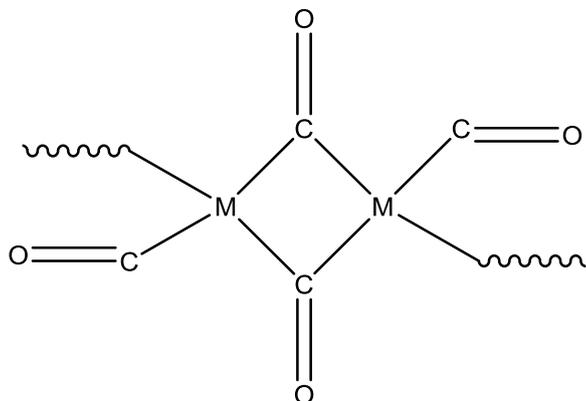


Gambar 2.6 Mekanisme Pemerangkapan

Dugaan interaksi pada pH 2 antara biomassa dengan merkuri (II) adalah pemerangkapan, dimana merkuri (II) hanya terperangkap dalam pori-pori biomassa dan tidak terjadi interaksi akibat perbedaan muatan (Al Ayubi 2008).

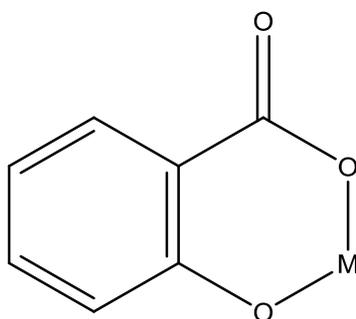
2.4.2. Dugaan Interaksi Hg²⁺ - Protein Berdasarkan Spectra Inframerah

Hasil analisis karakter ikatan ion logam Hg²⁺ dengan biomassa enceng gondok yang diperoleh dari spektra FTIR biomassa daun enceng gondok sebelum dan sesudah diinteraksi dengan merkuri (II) bahwa tipe ikatan antara situs aktif dengan merkuri (II) antara lain (Lilik Rohmawati, 2008). Adanya serapan pada bilangan gelombang sekitar 1648,06 cm⁻¹ dan serapan pada bilangan gelombang 700-400 cm⁻¹ juga memungkinkan adanya ikatan antara logam dengan CO (M-CO) yang membentuk suatu ligan jembatan (Brisdon, 1998).



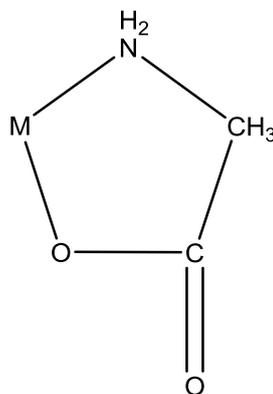
Gambar 2.7 Interaksi Dugaan Antara Situs Aktif Biomassa Daun Enceng Gondok dengan Merkuri (II) (M-CO) yang Membentuk Suatu Ligan Jembatan (Brisdon, 1998).

Peningkatan intensitas spektra pada serapan $3438,84 \text{ cm}^{-1}$. Menunjukkan terjadinya penurunan serapan O-H yang menyebabkan konsentrasi O-H semakin berkurang. Hal ini diperkirakan sebagian gugus O-H dalam biomassa pada pH 6 mengalami deprotonisasi saat pengocokan berlangsung, seperti yang diungkapkan Ayubi (2008) tentang pengaruh variasi pH terhadap adsorpsi merkuri (II) pada biomassa daun enceng gondok. Kemungkinan adanya deprotonisasi ini menyebabkan gugus O-H dapat berperan dalam pengikatan merkuri (II) (Lilik Rohmawati, 2008).



Gambar 2.8 Interaksi Dugaan antara Situs Aktif Biomassa Daun Enceng Gondok dengan Merkuri (II) (-COOM dan -OM) melalui Struktur Cincin Khelat (Andreas, 2006).

Spektra FTIR biomassa daun enceng gondok sesudah diinteraksikan dengan merkuri (II) juga memperlihatkan adanya pengurangan puncak serapan dan perubahan bentuk serapan, pada serapan $3367,48 \text{ cm}^{-1}$ dan perubahan bentuk serapan pada bilangan gelombang antara $450\text{-}350 \text{ cm}^{-1}$. Lemahnya puncak serapan pada bilangan gelombang $3367,48 \text{ cm}^{-1}$ diperkirakan konsentrasi N-H sedikit sehingga pada saat proses adsorpsi berlangsung serapan tersebut tidak terdeteksi lagi pada spektra biomassa daun enceng gondok sesudah diinteraksikan dengan merkuri (II). Hilangnya puncak serapan dan adanya perubahan bentuk serapan pada bilangan gelombang tersebut diperkirakan karena gugus N-H dari biomassa daun enceng gondok telah terikat oleh merkuri (II), diperkuat oleh Brisdon (1998) yang menyatakan bahwa pada bilangan gelombang antara $500\text{-}300 \text{ cm}^{-1}$ terdapat suatu ikatan antara logam dengan N (M-N) (Lilik Rohmawati, 2008).

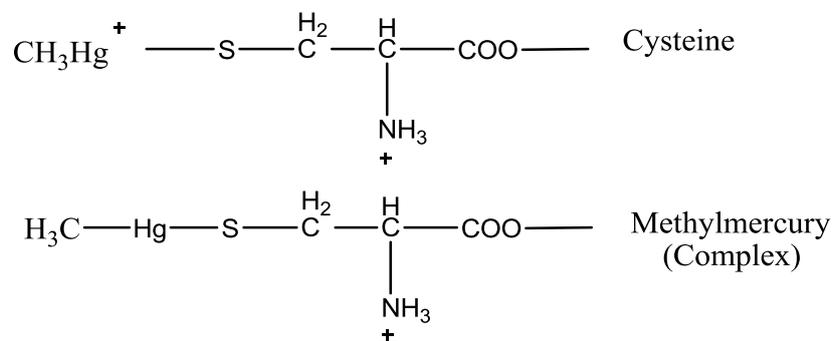


Gambar 2.9 Interaksi Dugaan antara Situs Aktif Biomassa Daun Enceng Gondok dengan Merkuri (II) (M-NH₂ dan -COOM) sebagai Ligan Bidental (socrates, 1994).

2.4.3. Interaksi Hg²⁺ dengan Gugus Sistein

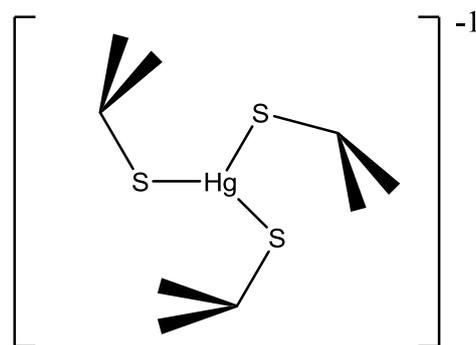
Hasil penelitian Bonnie O, Leung, Farideh Jalilehvand kristal tiolat Hg (II) mengindikasikan bahwa jarak ikatan Hg-S, yaitu jarak $2.32 - 2.36 \text{ \AA}$ untuk

kompleks linear $[\text{Hg}(\text{SR})_2]$, 2.42-2.44 Å untuk trigonal $[\text{Hg}(\text{SR})_3]^-$ dan 2.52-2.54 Å untuk kompleks tetrahedral distorsi $[\text{Hg}(\text{SR})_4]^{2-}$. Ikatan antara asam amino sistein (*cysteine*) dengan Hg (II) akan membentuk struktur kompleks linear $[\text{Hg}(\text{Cys})_2]^{2-}$, kompleks trigonal $[\text{Hg}(\text{Cys})_3]^{4-}$ dan kompleks tetrahedral $[\text{Hg}(\text{Cys})_4]^{6-}$ (Bonnie O, 2006).



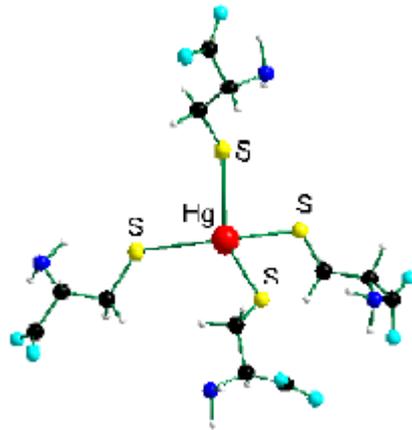
(Gunnar F, 2007)

Gambar 2.10 Ikatan Kompleks dari Metil Merkuri



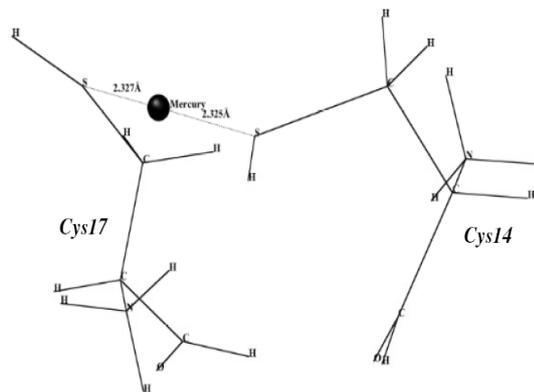
(Thomas V, 1993)

Gambar 2.11 Struktur Kompleks Trigonal $[\text{Hg}(\text{Cys})_3]^{4-}$



(Bonnie O, 2006)

Gambar 2.12 Struktur Kompleks Tetrahedral $[\text{Hg}(\text{Cys})_4]^{6-}$



(Jainendra Kumar, 2007)

Gambar 2.13 Struktur Merkuri Berikatan dengan Sistein

2.5 Adsorpsi

Adsorpsi adalah suatu proses di mana suatu komponen bergerak dari suatu fasa menuju permukaan yang lain sehingga terjadi perubahan konsentrasi pada permukaan. Zat yang di serap di sebut adsorbat sedangkan zat yang menyerap di sebut adsorben. Pada umumnya dikenal dua jenis adsorpsi, yaitu adsorpsi fisik

atau adsorpsi Van der Waals dan adsorpsi kimia atau adsorpsi teraktifasi (Oscik, 1982).

Adsorpsi fisik adalah adsorpsi yang melibatkan gaya intermolekul (gaya Van der Waals, ikatan hidrogen, dll) (Oscik, 1982). Pada adsorpsi ini adsorbat tidak terikat kuat pada permukaan adsorben sehingga dapat bergerak dari satu bagian adsorben ke bagian lain. Sifat adsorpsinya adalah *reversible* yaitu dapat balik atau dilepaskan kembali dengan adanya penurunan konsentrasi larutan (Larry, *et al.*, 1992). Adsorpsi kimia adalah adsorpsi yang melibatkan ikatan valensi sebagai hasil pemakaian bersama elektron oleh adsorben dan adsorbat. Adsorpsi berhubungan dengan pembentukan senyawa kimia yang melibatkan adsorben dan permukaan-permukaan zat yang diserap (Oscik, 1982). Adsorpsi ini biasanya tidak *reversible*. Adsorben harus dipanaskan pada temperatur tinggi untuk memisahkan adsorbat (Larry, *et al.*, 1992).

Kapasitas adsorpsi ion oleh adsorben adalah jumlah gugus yang dapat dipertukarkan dalam adsorben. Kapasitas pertukaran adsorpsi ion dari suatu adsorben ialah jumlah ion yang dapat ditukar untuk setiap 1 g adsorben kering, atau jumlah ion yang dapat ditukar untuk setiap 1 mL adsorben basah. Kapasitas adsorpsi ion ini biasanya dinyatakan dalam ion per g adsorben kering atau dalam ion per mL adsorben basah. Besarnya nilai kapasitas adsorpsi suatu adsorben bergantung dari jumlah gugus-gugus ion yang dapat ditukarkan yang terkandung dalam setiap g adsorben tersebut. Semakin besar jumlah gugus-gugus tersebut semakin besar pula nilai kapasitas adsorpsinya (Underwood, 2002).

Salah satu bahan organik yang digunakan sebagai adsorben adalah biomassa dari tumbuhan enceng gondok yang telah mati. Kemampuan biomassa tumbuhan ini telah terbukti dalam mengadsorpsi logam berat seperti merkuri. Al-Ayubi (2008) menjelaskan bahwa penyerapan merkuri (II) dengan menggunakan biomassa daun enceng gondok sebesar 0,1 gram dan telah diaktivasi dengan HCl 0,01 M, memiliki kapasitas adsorpsi sebesar $4,806 \times 10^{-5}$ mol/gr dengan konstanta adsorpsi sebesar $27130,85 \text{ (mol/L)}^{-1}$ dan energi adsorpsi sebesar 25,460 kJ/mol pada pH optimum 6 dan waktu pengocokan selama 60 menit.

Hasil penelitian lain tentang adsorpsi merkuri (II) dengan biomassa daun enceng gondok yang termobilisasi pada matriks polisilikat juga telah dilakukan oleh Khalifah (2008). Khalifah (2008) menjelaskan bahwa dalam waktu pengocokan 60 menit pada pH 6, 0,1 gram biomassa daun enceng gondok yang termobilisasi pada matriks polisilikat mampu menyerap merkuri (II) dengan kapasitas adsorpsi sebesar $4,649 \times 10^{-5}$ mol/g, konstanta adsorpsi sebesar $11334,79 \text{ (mol/L)}^{-1}$ dan energi adsorpsi sebesar 23,28 kJ/mol.

Lilik (2008) menjelaskan bahwa model kinetika adsorpsi merkuri (II) pada biomassa daun enceng gondok secara kuantitatif dapat dijelaskan melalui model kinetika langmuir pada tiap laju linear. Pada tahap I nilai konstanta laju adsorpsi (k) = $4,1 \cdot 10^{-2} \text{ menit}^{-1}$, konstanta keseimbangan (K) = $287,35 \text{ (mol/L)}^{-1}$, energi adsorpsi (ΔE_{ads}) = 14,119 kJ/mol, tahap II nilai konstanta laju adsorpsi (k) = $8 \cdot 10^{-4} \text{ menit}^{-1}$, konstanta keseimbangan (K) = $2381,4 \text{ (mol/L)}^{-1}$, energi adsorpsi (ΔE_{ads}) = 19,394 kJ/mol dan tahap III nilai konstanta laju adsorpsi (k) = $4 \cdot 10^{-1}$, konstanta keseimbangan (K) = $2602,1 \text{ (mol/L)}^{-1}$, energi adsorpsi (ΔE_{ads}) sebesar 19,615

kJ/mol. Secara kuantitatif, berdasarkan nilai energi adsorpsi dapat diketahui bahwa ikatan yang terjadi antara merkuri (II) dengan biomassa daun enceng gondok kebanyakan berikatan secara fisisorpsi.

2.6. Pemodelan Molekuler

Pemodelan molekuler suatu cara untuk menggambarkan atau menampilkan perilaku suatu sistem molekul semirip aslinya. Contoh model molekul adalah penggambaran dua dimensi dengan struktur lewis, yang menggambarkan electron dengan titik dan ikatan dengan garis (Jensen, 1999), namun umumnya orang menghubungkan pemodelan molekul dengan deskripsi struktur kimia dalam bentuk dimensi. Ada yang mendefinisikan pemodelan molekuler merupakan deskripsi dan representasi molekul dalam bentuk tiga dimensi yang berkaitan dengan sifat fisikokimia (Leach, 1996) definisi lain menyatakan bahwa pemodelan molekuler merupakan segala hal yang dikerjakan dengan bantuan komputer untuk menampilkan, menggambarkan atau mengevaluasi sifat-sifat suatu molekul (Danielsson, 2004). Pemodelan molekuler dilakukan untuk memberikan gambaran tentang perilaku molekul, yang pada akhirnya digunakan untuk melakukan perhitungan-perhitungan fisika dan kimia dari molekul tersebut. Pemodelan molekuler akan memberikan kemudahan dalam memahami struktur molekul, sifat-sifat perilaku sistem molekul (Leach, 1996).

Pemodelan dengan komputer akan terasa lebih mudah karena parameter-parameter yang terdapat dalam suatu molekul dapat dibuat dengan bantuan komputer. Perhitungan numeris dapat dilakukan dengan cepat meskipun

memerlukan banyak interaksi. pemodelan dengan menggunakan komputer merupakan pemodelan secara matematis dari molekul dan sifat-sifatnya, seperti posisi atom (koordinat kartesian dan koordinat internal), sifat-sifat electronic, maupun energi yang merupakan satu set dari persamaan-persamaan yang meliputi jarak atom, tipe atom dan ikatan antara atom (Spiegel, 2004) pendekatan seperti ini dikenal dengan pendekatan kimia komputasi.

Kimia komputasi adalah cabang ilmu kimia yang menggunakan hasil kajian kimia teori yang diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat molekul dan perubahannya (Leach, 1996). Contoh sifat-sifat molekul yang dihitung antara lain struktur, energy, muatan, momen dipole, kereaktifan, frekuensi getaran dan besaran spektroskopi lainnya. Istilah kimia komputasi juga digunakan untuk bidang-bidang yang saling tumpang tindih antara ilmu komputer dan kimia (Levine, 2000).

Metode kimia komputasi dapat dibedakan menjadi dua bagian besar yaitu mekanika molekuler (MM) dan metode struktur elektronik (QM) yang terdiri dari *ab initio* dan semiempiris (Jensen, 1999). Banyak aspek dinamik dan struktur molekul dapat dimodelkan menggunakan metode klasik dalam bentuk dinamik dan mekanika molekul. Medan gaya (force field) klasik di dasarkan pada hasil semiempiris yang merupakan nilai rata-rata dari sejumlah besar data parameter molekul karena melibatkan data dalam jumlah besar (Leach, 1996).

2.6.1 QM/MM

Metode gabungan QM/MM semakin populer dan *powerful* untuk memodelkan reaksi enzim. Metode ini menggabungkan penggambaran kimia

kuantum dari gugus yang langsung terlibat dalam reaksi dengan perlakuan yang lebih sederhana mekanika molekul untuk enzim dan lingkungannya (Rustaman, 2008).

Skema penggabungan yang berbeda dapat digunakan untuk menangani interaksi antara bagian QM dengan bagian MM. Enzim bersifat polar, sehingga penting untuk memasukkan polarisasi dari atom-atom QM dengan atom-atom tetangga MM, seperti yang selalu dimasukkan dalam studi enzim secara QM/MM. Metode QM/MM telah berkembang pesat pada tahun-tahun terakhir dan sekarang menjadi jelas bahwa metode tersebut dapat memberikan tinjauan yang berguna secara biokimia terhadap mekanisme reaksi enzimatik. Metode tersebut telah menunjukkan nilainya dalam mengidentifikasi fungsi-fungsi katalitik untuk residu-residu yang memiliki bagian aktif (seperti prolin yang pada monooksigenase bergantung pada flavin), dalam menjawab pertanyaan mekanistik dan menyarankan serta menguji prinsip-prinsip katalitik (seperti pengaruh konformasi dan kestabilan struktur keadaan transisi dalam enzim *chorismate mutase*). Perhitungan QM/MM dapat dilakukan pada tingkat perhitungan struktur elektronik yang berbeda-beda, seperti *ab initio*, semiempirik, fungsional kerapatan atau metode pendekatan fungsi kerapatan (contoh: *the self-consistent charge density-functional tightbinding (SCC-DFTB)*) yang menggabungkan efisiensi komputasi dengan keakuratan yang sesuai untuk kebanyakan penggunaan. Struktur keadaan transisi dapat dioptimasi dan simulasi dinamika molekul dapat dilakukan dengan metode QM/MM yang lebih sederhana (seperti QM/MM semiempirik). Perbedaan energi bebas, seperti energi bebas aktivasi dapat

dihitung, juga pengaruh kuantum seperti *tunneling* dan koreksi zpe. Metode ini memiliki peran penting karena metode ini membolehkan simulasi yang lebih luas (contoh simulasi dinamik dan Monte Carlo, sampling konformasi dan perhitungan lintasan reaksi). Metode semiempirik yang sudah diparameterisasi secara spesifik keakuratan yang lebih baik untuk reaksi tertentu. (Rustaman, 2008).

Menerapkan metode QM/MM perlu ketelitian, contohnya dalam memilih sistem QM dan dalam mempartisi QM/MM. Untuk sejumlah kecil enzim (contohnya enzim *chorismate mutase*) tidak ada interaksi kovalen antara enzim dan substrat sehingga pemisahan ke dalam bagian QM dan MM dapat dilakukan langsung; interaksi QM/MM hanya akan memasukkan bagian MM untuk interaksi van Der Waals dan QM/MM untuk interaksi elektrostatik, meskipun dalam banyak hal, batas antara bagian QM dengan MM harus memisahkan atom-atom yang terikat secara kovalen. Beberapa metode telah dikembangkan agar memungkinkan pemisahan antara QM/MM ini, termasuk atom penghubung (*link atoms*), contoh atom hidrogen yang ditambahkan pada atom-atom batas QM, orbital hibrida yang digeneralisir *pseudobonds* dan orbital terlokalisasi. Metode ini telah secara luas diuji dan sudah ditemukan bahwa jika diterapkan dengan sesuai (contoh mempartisi ikatan-ikatan tunggal C-C jauh dari muatan kimia) kebanyakan dapat memberikan gambaran yang sesuai. Sama pentingnya dengan metode mempartisi QM/MM adalah lokasi bidang batas, memperlakukan interaksi ikatan QM/MM (contoh semua term ikatan MM melibatkan minimal satu atom MM tetap (*retained*)) dan perlakuan interaksi elektrostatik QM/MM pada bidang batas (contohnya seringkali sebaiknya menghilangkan interaksi QM/MM dengan

atom MM yang terikat secara kovalen). Pengaruh elektrostatik jarak-jauh mungkin signifikan dan perlu dimasukkan (contoh melalui model solvasi kontinum digabungkan dengan pemodelan QM/MM) (Rustaman, 2008).

Penerapan metode QM/MM belum standar seperti metode perhitungan QM atau MM murni, namun pekerjaan yang ekstensif telah menentukan prosedur dan pendekatan yang sudah ditunjukkan layak dan menunjukkan menghasilkan prediksi yang baik, dalam beberapa hal, memungkinkan untuk memvalidasi hasil perhitungan QM/MM tentang energy aktivasi melalui korelasi dengan konstanta laju reaksi hasil percobaan untuk reaksi enzim. Penting untuk diingat bahwa komplikasi yang dapat muncul pada pemodelan protein (qualitas dan kesesuaian struktur kristal, pengaruh ketidakteraturan, seperti konformasi alternatif atau residu yang hilang, mungkin keadaan protonasi dari gugus yang dapat diionisasi), pada prakteknya, struktur kristal dengan resolusi tinggi dari kompleks enzim yang relevan (contoh substrat yang terikat atau keadaan transisi analognya) diperlukan untuk pemodelan mekanisme yang layak. Resolusi struktur kristal adalah suatu indikasi dari ketepatan struktur tetapi ini bukan satu-satunya faktor yang harus dipertimbangkan, kompleks harus mewakili kompleks reaktif dan contohnya bukan untuk konformasi yang tidak reaktif pada kondisi pH dan konsentrasi terlarut yang terkait dengan lingkungan dimana enzim yang sebenarnya berfungsi. Struktur kristal mewakili rata-rata semua molekul dalam kristal dan semua waktu selama eksperimen kristalografi; perata-rataan ini kadang-kadang berlaku untuk rantai samping asam amino. Struktur kristal protein sebaiknya tidak dipandang sebagai struktur molekul tunggal sederhana. Seperti simulasi biomolekul lainnya,

struktur awal sebaiknya diperiksa secara hati-hati pada tahap-tahap awal terhadap potensinya dalam kesulitan nantinya atau ketidakpastiannya. Saran para ahli biologi struktur dapat membantu mengidentifikasi dan menghilangkan masalah-masalah yang potensial (Rustaman, 2008).

Mensimulasikan mekanisme reaksi enzimatik, sangat penting untuk memilih keadaan-keadaan terprotonasi dari gugus-gugus fungsi dengan benar. Nilai-nilai pKa untuk rantai samping asam-asam amino yang bersifat asam maupun basa pada enzim dapat sangat berbeda secara signifikan dari nilai yang diharapkan dalam keadaan larutan. Memilih keadaan terprotonasi berdasarkan nilai pKa standar mungkin dapat memberikan model yang salah, kasus yang terburuk dapat mengarah pada mekanisme yang salah yang dimodelkan. Suatu ide yang baik untuk menggunakan metode dari harga pKa hasil perhitungan terutama untuk residu bagian-aktif (*activesite*) (Rustaman, 2008).

Perhitungan QM/MM dapat memberikan pengetahuan mengenai mekanisme enzim dan spesifitas. Metode QM/MM juga menjadi semakin penting dalam mempelajari ikatan ligan, yang mana metode ini menawarkan beberapa keuntungan dibandingkan metode MM, termasuk gambaran fisik yang lebih baik tentang ligan (contohnya tentang polarisasinya) dan menghindari kebutuhan akan parameterisasi yang cukup menyita waktu. Bidang ini masih berkembang dan belum sampai pada tahap dimana prediksi kuantitatif dan eksak, contoh laju reaksi dapat secara rutin dibuat, untuk alasan ini, penting untuk memvalidasi hasil prediksi yang dihasilkan dari pemodelan dengan data eksperimen, prediksi nilai pKa gugus-gugus fungsi dalam protein ini memberikan suatu contoh jenis

pengujian yang berguna dan akurat. Perkembangan terkini meliputi penggunaan metode QM/MM untuk simulasi gangguan energi-bebas, contohnya untuk menghitung binding affinity relatif dan pada molecular docking. Metode QM/MM pasti akan menjadi lebih penting dalam aplikasi perancangan obat (Rustaman, 2008).

Perhitungan hybrid QM/MM, melibatkan pembagian sistem ke dalam dua daerah yaitu, sebuah daerah QM, khususnya terdiri dari atom relatif kecil bersangkutan daerah spesifik untuk penyelidikan, dan daerah MM adalah daerah sisa atom. Hamiltonian sistem (H) adalah (Gustavo de M. Seabra, 2007):

$$\hat{H} = \hat{H}^{QM} + \hat{H}^{MM} + \hat{H}^{QM/MM}$$

\hat{H}^{QM} dan \hat{H}^{MM} adalah hamiltonians untuk bagian QM dan MM bagian dari sistem, dan perhitungan menggunakan salah satu metode QM, persamaan kekuatan medan. Bagian sisa, $\hat{H}^{QM/MM}$, menggambarkan interaksi antara bagian QM dan MM dan khususnya bagian elektrostatis, van der Waals dan interaksi batasan jarak daerah (Gustavo de M. Seabra, 2007).

Menangani dua daerah yang terpisah dengan metode yang berbeda, harus membuktikan bahwa pembagian dalam suatu sistem pada dua daerah pada prinsipnya adalah valid, dan untuk menentukan keadaan dari masing-masing daerah yang terpisah. Penanganan dalam pendekatan QM/MM mengasumsikan bahwa dasar dari Hamiltonian, untuk mendapatkan secara langsung rumus di bawah ini untuk pembagian energi (Jerzy Leszczynski, 2001):

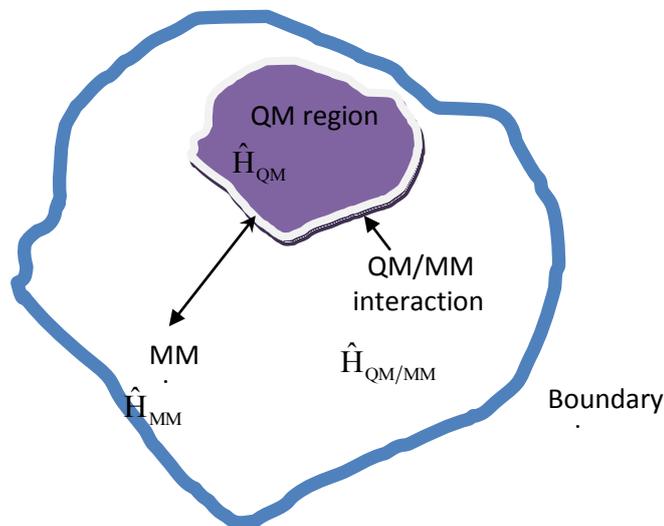
$$E = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM/MM}$$

Perbedaan utama antara penerapan dari IMOMM, IMOMO, dan ONIOM dan kebanyakan metode yang tersedia untuk metode QM/MM adalah berkaitan dengan penanganan interaksi antara daerah QM dan daerah MM. Pada prinsipnya, kebanyakan metode hybrid QM/MM, energi total dari keseluruhan sistemnya sebagai berikut (Jerzy Leszczynski, 2001):

$$E_{\text{tot}}(\text{QM}, \text{MM}) = E_{\text{QM}}(\text{QM}) + E_{\text{MM}}(\text{MM}) + E_{\text{interaksi}}(\text{QM/MM})$$

Bentuk perhitungan dan penamaan pada kedua daerah metode QM dan MM pada dasarnya dapat dihitung dengan interaksi energi antara daerah QM dan MM, dan dinyatakan dari rumus di atas menjadi (Jerzy Leszczynski, 2001):

$$E_{\text{tot}}(\text{QM}, \text{MM}) = E_{\text{QM}}(\text{QM}) + E_{\text{MM}}(\text{MM}) + E_{\text{QM}}(\text{QM/MM}) + E_{\text{MM}}(\text{QM/MM})$$



Gambar 2.14 Daerah Batasan QM/MM

2.7. Sifat permukaan

2.7.1 Struktur Pori

Seluruh material di bumi memiliki struktur pori. Struktur pori tersebut memiliki ukuran pori tertentu. Menurut definisi IUPAC (International Union of

Pure and Applied Chemistry) membagi klasifikasi pori menjadi 3 bagian yaitu mikropori, mesopori, dan makropori. Mikropori adalah pori yang mempunyai diameter lebih kecil dari 2 nm, mesopori adalah pori yang mempunyai diameter antara 2-50 nm, sedangkan makropori merupakan pori yang mempunyai diameter lebih dari 50 nm.

Porositas dalam suatu material dapat diklasifikasikan menjadi 2 jenis yaitu porositas terbuka dan porositas tertutup. Porositas terbuka merupakan pori yang terhubung antara satu permukaan dengan permukaan yang lain dan porositas tertutup adalah porositas yang terisolasi dari bagian luar (Donanta, 2006).

Dengan berkembangnya teknologi material nanopori, material dengan pori terbuka telah diteliti dan diaplikasikan dalam berbagai penggunaan seperti dalam proses adsorpsi, katalis, filtrasi dan membrane. Sedangkan material dengan porositas tertutup digunakan sebagai isolasi sonic, termal dan aplikasi struktur (Donanta, 2006).

2.7.2. Analisa Ruang

Dengan berbagai metode analisis ruang, partikel tiga dimensi permukaan obyek atau pori disusun kembali dari beberapa titik, baris, atau gambar bentuk 2 dimensi yang telah diukur yang tergambar pada layar. Menurut Haynes, dapat dibedakan antara analisis luas, analisis langsung, analisis secara acak dan analisis melalui titik-titik. Analisis luas merupakan suatu analisis dimana bagian-bagian daerah sampel telah tersketsa. Sedangkan analisis langsung merupakan suatu analisis dimana garis-garis tersebut digambarkan dari hasil proyeksi sampel atau gambar secara paralel baik garis-garis tersebut ditarik secara teratur maupun secara acak. Analisis titik merupakan suatu analisis yang menghitung jumlah titik-titik yang tergambar pada layar. Dengan menggunakan analisa teknik komputerisasi, metode analisa ruang ini sangat penting dan menguntungkan. Dalam kasus sistem berpori, hanya gambar terpotong-potonglah yang dapat dianalisa/diselidiki, dan untuk sistem pori terbuka dan tertutup hamper tidak ditemukan adanya perbedaan antara keduanya. Hubungan antara keduanya tidak

dapat dianalisa dan bahkan ukuran bagian-bagian yang bersekat dan saling silang beserta bentuknya tidak dapat ditentukan.

Menerapkan metode dalam pada sistem pori dengan mengukur persimpangan acak dari garis uji panjang gelombang (λ), dimungkinkan untuk menghitung luas permukaan spesifik Σ berkaitan dengan volume unit dengan persamaan Cackle's.

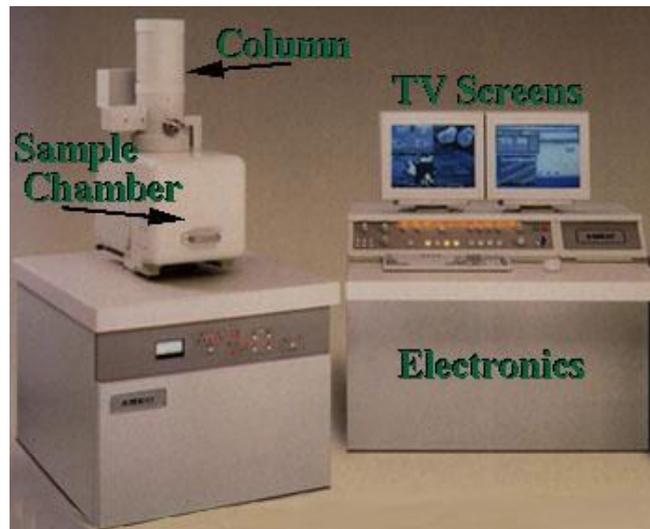
$$\Sigma = 4\varepsilon X_{pm}^{\lambda-1} T_p^{-1}$$

Dimana ε = porositas, T_p = angka berkala yang muncul pada baris garis terakhir dalam suatu pori. Sedangkan X_{pm} = angka persimpangan/titik potong dengan pori/batas matriks.

Beberapa pendekatan telah dilakukan untuk mengevaluasi permukaan butiran takberpori dari ukuran butir tersebut. Untuk benda-benda geometris yang beraturan, luas permukaan dapat dihitung dari ukuran-ukuran diameternya. Karena dalam kenyataannya kebanyakan serbuk bentuknya tidak beraturan dan mudah keropos, maka tidak dimungkinkan untuk mendapatkan hasil yang valid. Namun demikian, perhitungan seperti prediksi awal memungkinkan luas permukaan dari pemeriksaan secara mikroskopis, misalnya untuk memperbaiki massa sampel yang digunakan dalam pengukuran adsorpsi.

2.8 SEM (Scanning Electron Microscope)

SEM merupakan metode karakterisasi dan penelitian struktur pori pada membrane mikrofiltrasi.



Gambar 2.15 Instrumen SEM

Dalam catatan sejarah, (Waskitoaji, 2000) menyatakan bahwa tidak diketahui secara persis siapa sebenarnya penemu Mikroskop Elektron Mode Scanning/Scanning Electron Microscope (SEM) ini. Publikasi pertama kali yang mendeskripsikan teori SEM dilakukan oleh fisikawan Jerman Dr Max Knoll pada 1935, meskipun fisikawan Jerman lainnya Dr Manfred von Ardenne mengklaim dirinya telah melakukan penelitian suatu fenomena yang kemudian disebut SEM hingga tahun 1937. Mungkin karena itu, tidak satu pun dari keduanya mendapatkan hadiah nobel untuk penemuan itu.

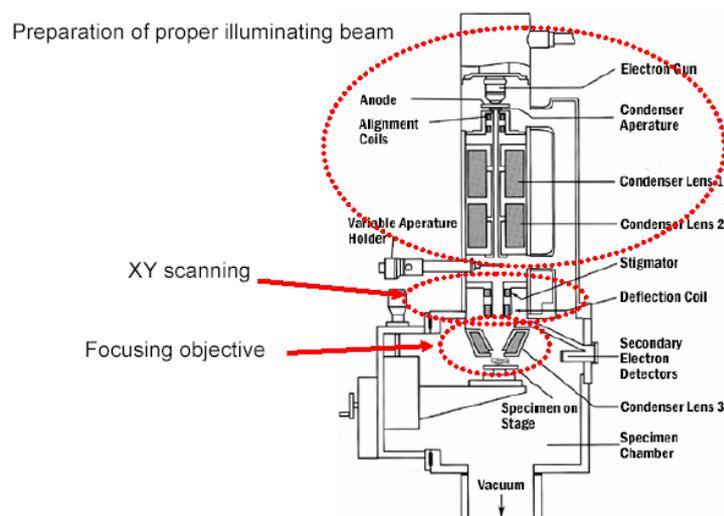
Pada 1942 tiga orang ilmuwan Amerika yaitu Dr Zworykin, Dr Hillier, dan Dr Snijder, benar-benar membangun sebuah mikroskop elektron mode Scanning dengan resolusi hingga 50 nm atau magnifikasi 8.000 kali. Sebagai perbandingan SEM modern sekarang ini mempunyai resolusi hingga 1 nm atau pembesaran 400.000 kali. Mikroskop elektron mode ini memfokuskan sinar elektron (electron beam) di permukaan obyek dan mengambil gambarnya dengan mendeteksi elektron yang muncul dari permukaan obyek.

Pada mode TEM dan LM sinar elektron dibuat statis dan pengamat menggerakkan obyeknya. Sedang pada SEM sinar elektron yang terfokus digerakkan keseluruhan bagian permukaan sample dengan menggunakan coil pembelok sinar (*deflection oil*), sehingga obyek dapat diamati nyaris seperti LM

dengan pembesaran yang lebih baik. Sayangnya elektron yang diamati bukan elektron dari sinar elektron yang dipancarkan tetapi elektron yang berasal dari dalam obyek yang diamati. Sehingga untuk menghindari penumpukan elektron (hal ini menyebabkan charging di mana obyek terlihat terang benderang sehingga tidak mungkin melakukan pengamatan) di permukaan obyek diperlukan grounding, dengan kata lain permukaan obyek harus bersifat konduktif (dapat mengalirkan elektron) agar elektron yang menumpuk dapat dialirkan.

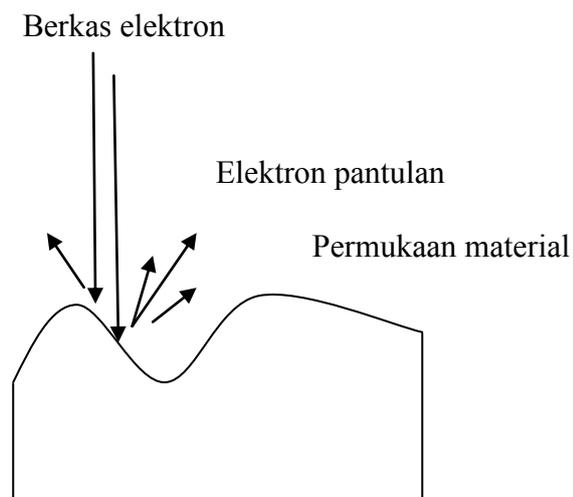
Untuk obyek yang tidak konduktif hal ini dapat diatasi dengan melapisi permukaan obyek tersebut dengan karbon, emas atau platina setipis mungkin. Tentu saja hal ini belum sepenuhnya memuaskan para peneliti terutama yang bekerja dengan obyek pengamatan yang tidak dapat dipertipis dan tidak konduktif, karena bagaimanapun mereka ingin melihat obyek mereka apa adanya seperti aslinya tanpa menambahkan perlakuan. Untuk itu kini dikembangkan apa yang disebut Environmental SEM (ESEM).

SEM Anatomy



Gambar 2.16 Bagian-bagian SEM

SEM adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang menggunakan berkas elektron untuk menggambar profil permukaan benda. Prinsip kerja SEM adalah menembakkan permukaan benda dengan berkas elektron berenergi tinggi seperti diilustrasikan pada Gbr. 1. Permukaan benda yang dikenai berkas akan memantulkan kembali berkas tersebut atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah. Tetapi ada satu arah di mana berkas dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Detektor di dalam SEM mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Arah tersebut memberi informasi profil permukaan benda seperti seberapa landai dan ke mana arah kemiringan.



Gambar 2.17 Dalam SEM berkas electron berenergi tinggi mengenai permukaan material. Elektron pantulan dan electron sekunder dipancarkan kembali dengan sudut yang bergantung pada profil material permukaan.

SEM memiliki resolusi yang lebih tinggi daripada mikroskop optik. Hal ini disebabkan oleh panjang gelombang de Broglie yang dimiliki elektron lebih pendek daripada gelombang optik. Makin kecil panjang gelombang yang

digunakan maka makin tinggi resolusi mikroskop. Panjang gelombang de Broglie elektron adalah

$$\lambda = h / p$$

dengan h konstanta Planck dan p adalah momentum elektron. Momentum elektron dapat ditentukan dari energi kinetik melalui hubungan :

$$K = p^2/2m.$$

dengan K energi kinetik elektron dan m adalah massanya. Dalam SEM berkas elektron keluar dari filamen panas lalu dipercepat pada potensial tinggi V . Akibat percepatan tersebut, akhirnya elektron memiliki energy kinetik

$$K = eV$$

Dengan demikian kita dapat menulis momentum electron sebagai:

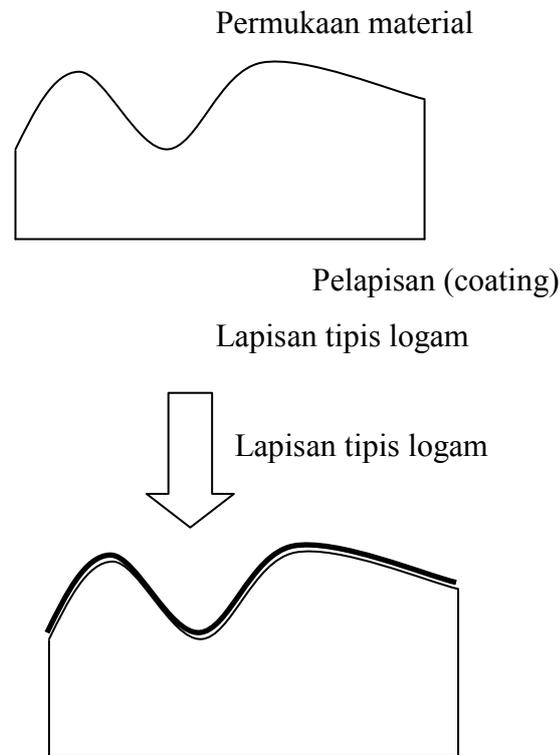
$$p = \sqrt{2meV}$$

dan panjang gelombang de Broglie

$$\lambda = h / \sqrt{2meV}$$

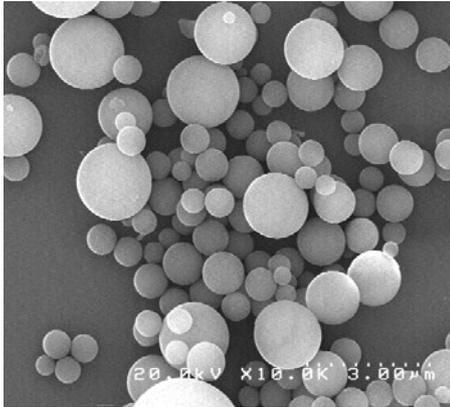
Umumnya tegangan yang digunakanlah puluhan kilovolt. Sebagai ilustrasi, misalkan SEM dioperasikan pada tegangan 20 kV maka panjang gelombang de Broglie elektron sekitar 9×10^{-12} m. Syarat agar SEM dapat menghasilkan citra yang tajam adalah permukaan benda harus bersifat sebagai pemantul elektron atau dapat melepaskan elektron sekunder ketika ditembak dengan berkas elektron. Material yang memiliki sifat demikian adalah logam. Jika permukaan logam diamati di bawah SEM maka profil permukaan akan tampak dengan jelas.

Agar profil permukaan bukan logam dapat diamati dengan jelas dengan SEM maka permukaan material tersebut harus dilapisi dengan logam seperti diilustrasikan pada Gbr. 2 [1-3]. Film tipis logam dibuat pada permukaan material tersebut sehingga dapat memantulkan berkas elektron. Metode pelapisan yang umumnya dilakukan adalah evaporasi dan sputtering.

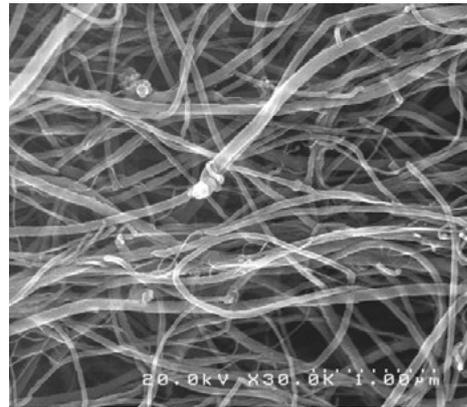


Gambar 2.18 Permukaan isolator perlu dilapisi logam agar dapat diamati dengan jelas dibawah SEM

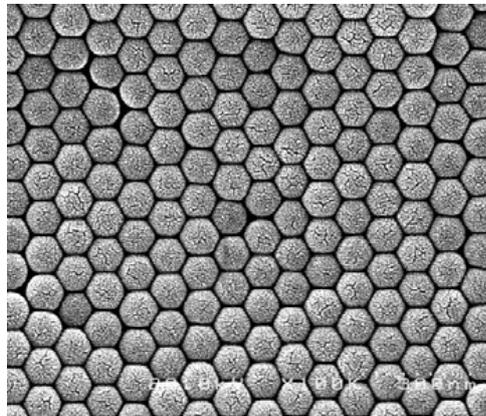
Pada metode evaporasi, material yang akan diamati permukaannya ditempatkan dalam satu ruang (chamber) dengan logam pelapis. Ruang tersebut dapat divakumkan dan logam pelapis dapat dipanaskan hingga mendekati titik leleh. Logam pelapis diletakkan di atas filamen pemanas. Mula-mula chamber divakumkan yang diikuti dengan pemanasan logam pelapis. Atom-atom menguap pada permukaan logam. Ketika sampai pada permukaan material yang memiliki suhu lebih rendah, atom-atom logam terkondensasi dan membentuk lapisan film tipis di permukaan material. Ketebalan lapisan dapat dikontrol dengan mengatur lama waktu evaporasi. Agar proses ini dapat berlangsung efisien maka logam pelapis yang digunakan harus yang memiliki titik lebur rendah. Logam pelapis yang umumnya digunakan adalah emas.



Gambar 2.19 Partikel (3 μ m)



Gambar 2.20 Nanotube (1 μ m)



Gambar 2.21 Gambar partikel yang terorganisasi (300 nm)

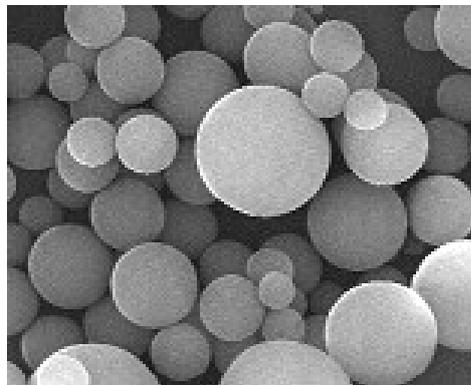
Prinsip kerja sputtering mirip dengan evaporasi. Namun sputtering dapat berlangsung pada suhu rendah (suhu kamar). Permukaan logam ditembak dengan ion gas berenergi tinggi sehingga terpelekat keluar dari permukaan logam dan mengisi ruang di dalam chamber. Ketika mengenai permukaan sample, atom-atom logam tersebut membentuk fase padat dalam bentuk film tipis. Ketebalan lapisan dikontrol dengan mengatur lama waktu sputtering. Pada saat pengukuran dengan SEM, lokasi di permukaan sample tidak boleh terlalu lama dikenai berkas.

Elektron permukaan sample akan menguap dan kembali menjadi isolator. Akhirnya bayangan yang terekam tiba-tiba menjadi hitam. Gambar 2.19-2.21 adalah beberapa contoh bayangan material yang diamati dengan SEM. Seperti pada Gbr. 2.19 yang berenergi tinggi pada berkas dapat mencabut atom-atom di

permukaan sample sehingga permukaan tersebut akan rusak dengan cepat. Film tipis di permukaan sample akan menguap dan kembali menjadi isolator. Akhirnya bayangan yang terekam tiba-tiba menjadi hitam.

Gambar 2.19 sampai 2.21 adalah beberapa contoh bayangan material yang diamati dengan SEM. Seperti pada Gbr. 2.19 tampak jelas bahwa ukuran partikel yang dibuat tidak seragam, tetapi bervariasi. Pernyataan selanjutnya adalah bagaimana menentukan distribusi ukuran partikel

Setiap foto SEM memiliki bar skala yang panjangnya sudah tertentu. Bar tersebut menjadi acuan penentuan ukuran partikel. Contohnya ada bar yang tertulis panjangnya $0,5 \mu\text{m}$. Jika diukur dengan penggaris misalkan panjang bar tersebut adalah 1 cm maka 1 cm pada gambar bersesuaian dengan panjang $0,5 \mu\text{m}$ ukuran sebenarnya. Jika kita mengukur diameter partikel pada gambar dengan menggunakan penggaris adalah 2,2 cm maka diameter riil partikel tersebut adalah $(2,2 \text{ cm}/1 \text{ cm}) \times 0,5 \mu\text{m} = 1,1 \mu\text{m}$.



Gambar 2.22 Foto SEM yang diperbesar

Agar pengukuran dapat dilakukan dengan teliti, maka foto SEM difotocopy perbesar beberapa kali lipat seperti ilustrasi gambar 2.22

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia Universitas Islam Negeri Malang pada bulan Juli-Desember 2010.

3.2 Bahan

3.2.1 Bahan Penelitian

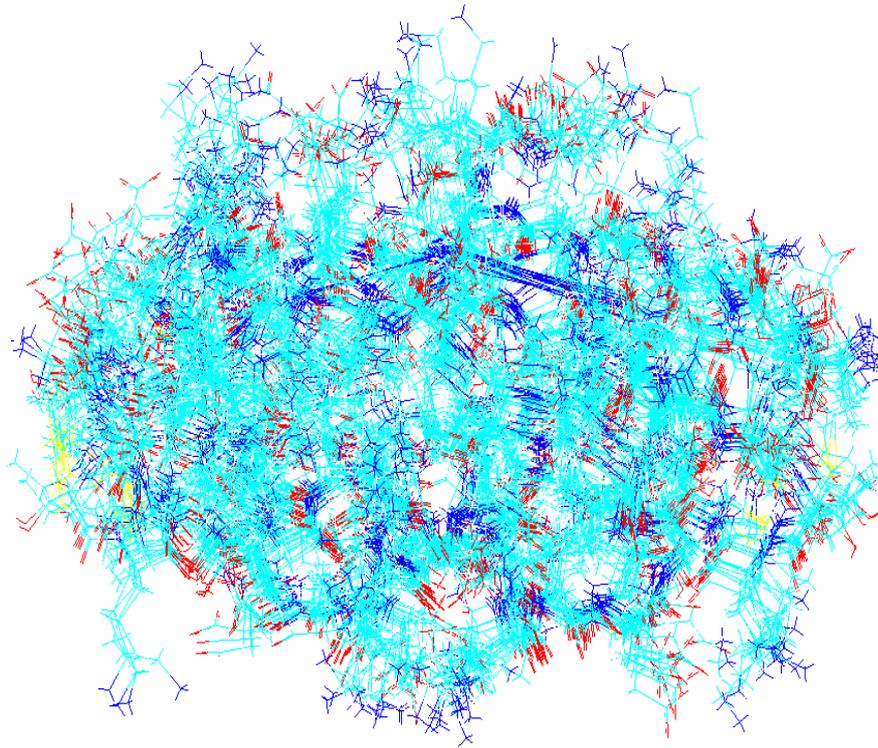
Bahan yang digunakan sebagai biomassa adalah daun enceng gondok. Materi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini berupa model dari molekul protein merT yaitu model protein dipilih dari studi literatur tentang kemungkinan jenis yang ada pada daun enceng gondok secara umum.

3.2.2 Bahan Kimia

Semua bahan kimia yang digunakan mempunyai derajat kemurnian proanalisis, meliputi: aquades, aquademin, HCl 0,01M, p.a Merck, KBr, NaOH 10 %, CuSO₄ 0,2 %, K₂SO₄, CuSO₄, H₂SO₄ pekat, H₂O₂, H₃BO₃ 4%, (*bromocherosol green* 0,1 % dan *methyl red* 0,1 % (2:1)), Na₂(SO₄), HCl 0,2 N.

3.2.3 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini berupa model dari molekul protein merT.



Gambar 3.1. Model Struktur Protein merT (Pdb Bank)

3.3 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, oven, pemanas, keretas saring, ayakan 120-150 Mesh, spektrofotometer IR Shimadzu, labu kjeldahl, alat destruksi, alat destilasi, desikator, perangkat lunak kimia komputasi yang digunakan adalah paket program HyperChem release 8.0 (HyperChem, HyperCube, 2002). Perangkat keras yang digunakan berupa komputer dengan prosessor Genuine intel (R) CPU T2080 @ 1.73 GHz 1.73 GHz memory 2038MB. Kaca obyek dan penutup obyek, seperangkat instrument mikroskop optik jenis Olympus CX 31 dan SMZ 1500 dan Mikroskop Scaning Elektron (SEM).

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan rancang bangun penelitian eksperimental laboratorik yang bersifat kuantitatif. Proses preparasi biomassa enceng gondok, karakteristik gugus fungsi dan jumlah N total pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar dan enceng gondok setelah di oven 90 °C, untuk membandingkan gugus fungsi protein dan kandungan N total enceng gondok basah atau enceng gondok segar dengan enceng gondok setelah dioven 90 °C, pada sampel enceng gondok setelah dioven 90 °C juga diukur luas permukaan dan distribusi pori. Uji kualitatif protein terlarut pada filtrat enceng gondok setelah dicuci dengan HCl pada konsentrasi 0,01M, uji biuret filtrat yang positif mengandung molekul-molekul peptida dari protein ditandai warna ungu (violet) sedangkan uji ninhidrin filtrat yang positif mengandung asam amino bebas dalam protein ditandai warna biru.

Sampel enceng gondok yang telah dicuci dengan HCl 0,01 M dilihat karakteristik permukaan dan distribusi pori dengan menggunakan mikroskop optik dan instrumen SEM.

Penentuan karakteristik spektra IR pemodelan interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} menggunakan metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP. Model protein merT dipilih dari studi literatur kemungkinan jenis yang ada pada protein daun enceng gondok secara umum. Model struktur protein merT file *Fasta.Seq* di download dari www.ncbi.nlm.nih.gov, struktur protein merT ditampilkan dalam bentuk struktur 2 dimensi pada program hyperchem menggunakan menu *Databases /*

Sequence Editor, kemudian file *Fasta.Seq* yang ditampilkan berupa urutan asam amino dan struktur sekunder. Program hyperchem akan menggambar struktur 2 dimensi secara otomatis menggunakan menu *Put* pada kotak *Sequence Editor*. Penelitian ini menentukan karakteristik spektra IR antara Hg^{2+} dengan gugus aktif pada asam amino yang terdapat pada protein biomassa daun enceng gondok menggunakan metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP. Pemilihan basis set dalam pemodelan dilakukan berdasarkan studi literatur. Spesiasi gugus pada asam amino dipengaruhi oleh titik isoelektrik yang dimiliki oleh asam amino, dengan mengetahui titik isoelektrik dapat diramalkan muatan dari asam amino akibat protonasi atau deprotonasi pada perubahan pH larutan. Penelitian ini menggunakan senyawa asam amino sebagai daerah QM yang memiliki titik isoelektrik mendekati 6, sesuai pH optimum interaksi Hg^{2+} - enceng gondok menurut hasil penelitian Al Ayubi (2007). Tabel dibawah ini adalah titik isoelektrik beberapa asam amino yang akan dimodelkan berikatan dengan Hg^{2+} .

Asam amino	Titik Isoelektrik
Glisin	5,97
Leusin	5,98
Serin	5,68
Glutamine	5,65
Sistein	5,05
Tirosin	5,63
Valin	5,95
Asparagin	5,41
Metionin	5,74
Fenilalanin	5,50
Triptofan	5,89

Situs-situs aktif yang terdapat pada asam amino yang berperan sebagai pengikat logam Hg^{2+} yaitu $-COOH$, NH_2 dan S akan membentuk struktur kompleks dengan bentuk struktur linear. Menurut hasil penelitian Lilik Rohmawati (2008) Interaksi situs aktif biomassa daun enceng gondok dengan merkuri (II) (M-CO) yang membentuk suatu ligan jembatan, ($-COOM$ dan $-OM$) melalui cincin Khelat dan ($M-NH_2$ dan $-COOM$) sebagai ligan bidental. Struktur Hg^{2+} yang berikatan dengan situs aktif $-COOH$, NH_2 dan S didesain menggunakan hyperchem dengan bentuk struktur kompleks yang spesifik menggunakan metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP. Data yang diperoleh berupa spektra IR kemudian dibandingkan dengan hasil spektra IR eksperimen dari penelitian sebelumnya.

3.5. Cara Kerja

3.5.1 Persiapan Biomassa Daun Enceng Gondok (Setiawan, 2005)

Tanaman enceng gondok yang diperoleh dipisahkan dari tanahnya dan dicuci. Bagian daun dipisahkan dari akar dan batangnya. Daun enceng gondok dicuci kemudian dikeringkan pada oven dengan suhu $90\text{ }^{\circ}C$ sampai diperoleh berat konstan. Sampel yang telah kering kemudian ditumbuk sampai halus dan kemudian disaring dengan ayakan berukuran 120 mesh, kemudian sampel yang lolos disaring kembali dengan ayakan ukuran 150 mesh. Sampel yang digunakan adalah sampel yang tertinggal pada ayakan yang berukuran 150 mesh. Sampel dicuci dengan HCl 0,01M.

3.5.2 Karakterisasi Biomassa Daun Enceng Gondok dan Penentuan Kadar Protein Kasar Enceng Gondok Basah dan Enceng Gondok Setelah Di Oven 90 °C. (Metode Kjeldahl) (AOAC 1995)

3.5.2.1 Karakterisasi Biomassa Daun Enceng Gondok

Sejumlah sampel biomassa daun enceng gondok basah, enceng gondok setelah di oven 90 °C, dibuat masing-masing dalam bentuk pellet dengan KBr. Pellet dibuat dengan penghalusan bersama enceng gondok dengan KBr kering dan diberi tekanan dalam kondisi vakum. Pellet press dibuka secara hati-hati, kemudian pellet yang dihasilkan dipindahkan dengan menggunakan spatula ke dalam sel holder. Sampel dalam bentuk pelet kemudian dikarakterisasi dengan spektrofotometer inframerah.

3.5.2.2 Penentuan Kadar Protein Kasar Daun Enceng Gondok Basah dan Enceng Gondok Setelah Di Oven 90 °C. (Metode Kjeldahl) (AOAC 1995)

Prinsip analisa adalah pengukuran kadar nitrogen (N) dari sampel dengan menggunakan metode makro Kjeldahl. Ada 3 tahap analisa protein yaitu: Tahap Destruksi, Tahap Destilasi, Tahap Titrasi.

Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode mikro Kjeldahl. Sampel enceng gondok sebanyak 0,75 g dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, kemudian ditambahkan 6,25 g K_2SO_4 dan 0,6225 g $CuSO_4$ sebagai katalisator. Sebanyak 15 ml H_2SO_4 pekat dan 3 ml H_2O_2 secara perlahan-lahan ditambahkan ke dalam labu dan didiamkan selama 10 menit dalam ruangan asam.

Tahap selanjutnya adalah proses destruksi pada suhu 410 °C selama 2 jam atau hingga didapatkan larutan yang jernih, didiamkan hingga mencapai suhu kamar dan ditambahkan 50 – 75 ml akuades.

Disiapkan erlenmeyer berisi 25 ml larutan H_3BO_3 4 % yang mengandung indikator (bromocherosol green 0,1 % dan methyl red 0,1 % (2:1)) sebagai penampung destilat. Labu kjeldahl dipasang pada rangkaian alat destilasi uap. Ditambahkan 50 ml $Na_2(SO_4)_3$ (alkali). Dilakukan destilasi dan destilasi ditampung dalam erlenmeyer tersebut hingga volume destilat mencapai 150 ml (hasil destilat bewarna hijau). Destilat dititrasi dengan HCl 0,2 N, dilakukan hingga warna berubah menjadi abu-abu natural. Blanko dikerjakan seperti tahapan contoh. Pengujian contoh dilakukan duplo.

3.5.3 Uji Kualitatif Adanya Protein Terlarut pada Filtrat atau Eluen Setelah Dicuci Dengan HCl 0,01M (Estien, 2006)

3.5.3.1 Uji Biuret

Sediakan 1 tabung reaksi yang bersih dan kering, lalu diisi dengan larutan filtrat enceng gondok sebanyak 2 mL. Tambahkan pada tabung 1 mL NaOH 10 % dan $CuSO_4$ 0,2 % sebanyak 3 tetes. Campur dengan baik. Amati dan catat perubahan warna yang terjadi.

3.5.3.2 Uji Ninhidrin

Sediakan 1 tabung reaksi yang bersih dan kering, lalu diisi dengan larutan filtrat enceng gondok sebanyak 2 mL. Tambahkan pada tabung 5 tetes pereaksi

Ninhidrin. Campur dengan baik, dan panaskan di penangas air hingga mendidih selama 5 menit. Amati dan catat perubahan warna yang terjadi.

3.5.4. Karakterisasi permukaan dan distribusi pori biomassa enceng gondok yang telah dicuci dengan HCl 0,01 M

3.5.4.1 Penentuan tekstur padatan menggunakan mikroskop optik

Penentuan tekstur padatan enceng gondok (bagian batang) ditentukan menggunakan mikroskop optik Olympus CX 31 dan SMZ 1500. Sampel yang akan dikarakterisasi diambil sedikit menggunakan jarum ose, kemudian diletakkan pada kaca obyek. Selanjutnya diteteskan air di atasnya (kira-kira 1-2 tetes) menggunakan pipet tetes. Ditutup kaca obyek menggunakan kaca penutup obyek selanjutnya dilakukan pengamatan dibawah mikroskop. Untuk mikroskop optik jenis Olympus CX 31 dilakukan perbesaran 400x, sedangkan untuk mikroskop optik jenis Nikon SMZ 1500 dilakukan perbesaran 120x.

3.5.4.2 Penentuan ukuran partikel padatan menggunakan SEM

Penentuan ukuran partikel padatan enceng gondok (bagian batang) ditentukan menggunakan SEM (Scanning Electron Microscopy). Diambil sedikit sampel lalu dimasukkan dalam tempat sampel. Dilakukan pengamatan menggunakan SEM dengan perbesaran 100x, 500x, 1000x, 2500x dan 5000x. Ukuran rata-rata partikel ditentukan dengan cara menghitung jumlah total nilai ukuran partikel yang terukur pada layar dibagi dengan banyaknya partikel yang terukur.

$$\text{Ukuran partikel rata-rata} = \frac{\text{Jumlah Total ukuran partikel}}{\text{Banyaknya partikel yang terukur (n)}}$$

3.5.5. Penentuan Karakteristik Spektra IR Pemodelan Interaksi Situs Aktif Biomassa dengan Hg²⁺ metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg²⁺ menggunakan basis set LANL2DZ ECP

Penentuan implementasi komputasi protein pada adsorben enceng gondok menggunakan perangkat lunak kimia komputasi yang digunakan adalah paket program HyperChem release 8.0 (HyperChem, HyperCube, 2002). Perangkat keras yang digunakan berupa komputer dengan prosesor Genuine intel (R) CPU T2080 @ 1.73 GHz 1.73 GHz memory 2038MB. Model protein dipilih dari studi literatur tentang kemungkinan jenis yang ada pada daun enceng gondok secara umum, model struktur protein merT file FASTA.SEQ di download dari www.ncbi.nlm.nih.gov. Makromolekul protein, dibagi menjadi 2 daerah perhitungan yaitu:

1. Daerah QM dimana terjadi interaksi antara Hg²⁺ dengan gugus protein diteliti dengan metode Ab Initio pada level teori RHF/LANL2 DZ untuk ion Hg²⁺ dan STO-3G untuk atom-atom pada asam amino.
2. Daerah MM dimana merupakan daerah selain daerah interaksi antara Hg²⁺ dengan gugus protein dengan medan gaya AMBER.
3. Daerah batas QM – MM.

3.6. Analisa Data

3.6.1 Analisis Spektroskopi Inframerah

Hasil pengujian gugus fungsi enceng gondok basah, enceng gondok setelah di oven 90 °C, dibandingkan sehingga, dapat diketahui perubahan gugus fungsi protein yang ada dalam daun enceng gondok.

3.6.2 Analisis N-Total dengan Metode Kjeldahl

Hasil pengujian N total untuk menentukan protein yang terdapat pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar, enceng gondok oven 90 °C. Dibandingkan sehingga, dapat diketahui kandungan protein yang ada dalam daun enceng gondok ketika dilakukan proses preparasi pembuatan biomassa.

$$[\text{NH}_3] \quad \Sigma \text{ Protein}$$

Rumus penentuan kadar protein kasar sebagai berikut (AOAC, 1995):

$$\text{Kadar protein} = \frac{(A - B) \times \text{normalitas HCl} \times 14,007 \times 6,2}{W(g)} \times 100 \%$$

Keterangan: A = ml titrasi HCl sampel

B = ml titrasi HCl blank

3.6.3 Analisis Uji Kualitatif Adanya Protein dari Filtrat atau Eluet Setelah Dicuci Dengan HCl 0,01M.

3.6.3.1 Analisis Uji Biuret

Uji biuret dilakukan untuk membuktikan adanya molekul-molekul peptida dari protein. Ion Cu^{2+} dalam suasana basa akan bereaksi dengan polipeptida atau ikatan-ikatan peptida yang menyusun protein membentuk senyawa kompleks

bewarna ungu (violet). Reaksi biuret positif terhadap dua buah ikatan peptida atau lebih, tetapi negatif untuk asam amino bebas atau dipeptida.

3.6.3.2 Analisis Uji Ninhidrin

Uji ninhidrin dilakukan untuk membuktikan adanya asam amino bebas dalam protein. Semua asam amino atau peptida yang mengandung asam α -amino bebas akan bereaksi dengan ninhidrin membentuk senyawa kompleks berwarna biru. Namun, prolin dan hidroksiprolin menghasilkan senyawa berwarna kuning.

3.6.4 Analisis Karakteristik Permukaan dan Distribusi Pori pada Adsorben Enceng Gondok

Analisis karakteristik permukaan dilakukan secara deskriptif dengan mengamati profil permukaan, ukuran rata-rata partikel, distribusi ukuran pori dan ukuran rata-rata diameter pori dan panjang pori.

3.6.7 Penentuan Karakteristik Spektra IR Pemodelan Interaksi Situs Aktif Biomassa dengan Hg^{2+} metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan metode QM-MM dengan basis set QM ab initio LANL2 DZ ECP untuk ion Hg^{2+} dan STO-3 untuk atom-atom asam amino pada level teori RHF berupa spektra IR kemudian dibandingkan dengan hasil spektra IR eksperimen dari penelitian sebelumnya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam bab ini disajikan hasil dan pembahasan tentang: (1) karakter vibrasi IR pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar sebelum dilakukan proses preparasi dan sesudah di oven 90° C (2) jumlah N total pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar sebelum dilakukan proses preparasi dan jumlah N total pada enceng gondok setelah di oven 90° C (3) protein terlarut pada filtrat enceng gondok setelah dicuci dengan HCl 0,01 M (3) karakteristik vibrasi IR pemodelan interaksi situs aktif biomassa dengan Hg²⁺ metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg²⁺ menggunakan basis set LANL2DZ ECP.

4.1 Preparasi Biomassa Daun Enceng Gondok

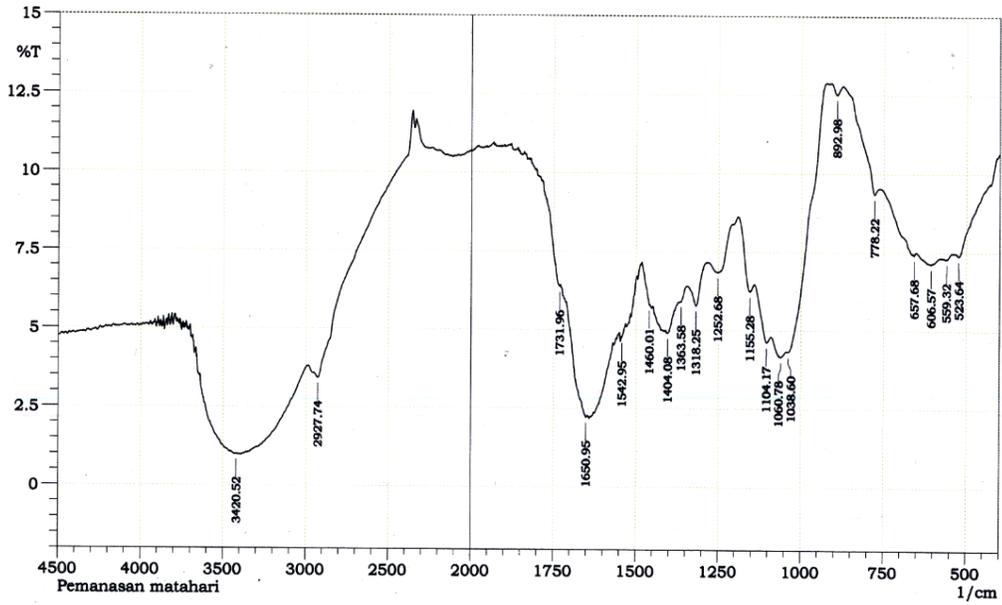
Tanaman enceng gondok yang diperoleh dipisahkan dari tanahnya dan dicuci. Bagian daun dipisahkan dari akar dan batangnya. Daun enceng gondok dicuci dan ditiriskan kemudian dipotong-potong kecil. Daun enceng gondok dibagi menjadi 2 bagian yaitu bagian pertama dikeringkan pada sinar matahari dengan cara diangin-anginkan dan bagian kedua dikeringkan pada oven dengan suhu 90° C, tujuan dilakukannya pengeringan adalah untuk menghilangkan kadar air pada daun enceng gondok. Sampel yang telah kering kemudian di blender sampai halus bertujuan memperbesar luas permukaan sampel dan kemudian disaring dengan ayakan 120 mesh, sampel yang lolos disaring kembali dengan ayakan ukuran 250 mesh. Sampel yang digunakan adalah sampel yang tertinggal pada ayakan yang berukuran 250 mesh. Sampel dicuci dengan HCl 0,01 M, berfungsi

sebagai aktivasi yaitu menghilangkan kadar logam yang terdapat pada biomassa enceng gondok dan meningkatkan luas pori permukaan pada biomassa enceng gondok.

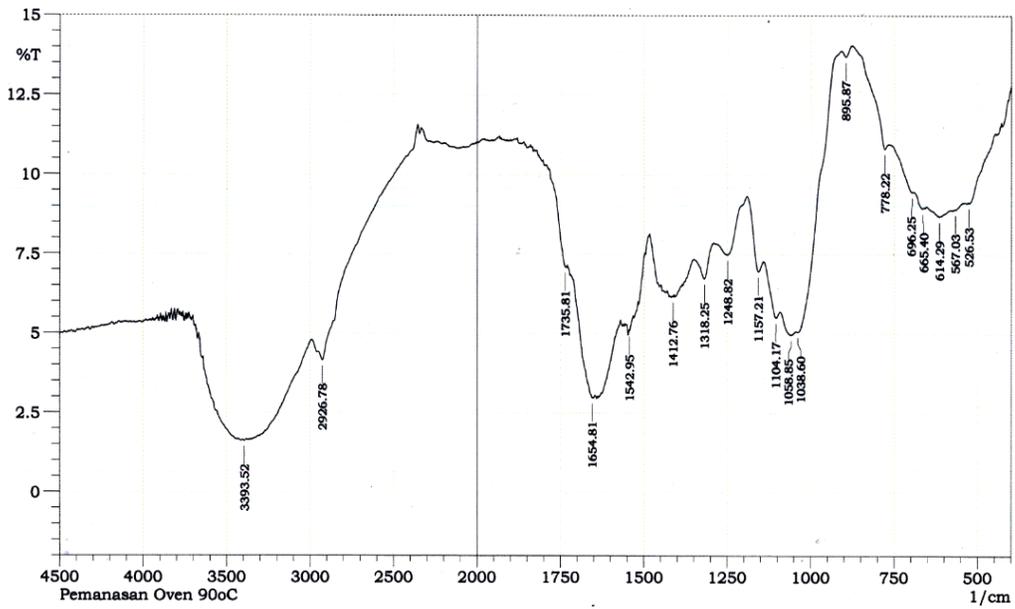
4.2 Karakter Vibrasi IR pada Enceng Gondok Basah atau Enceng Gondok Segar Sebelum dilakukan Proses Preparasi dan Sesudah di Oven 90° C

Daun enceng gondok yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun enceng gondok basah atau enceng gondok segar sebelum dilakukan proses preparasi. Proses preparasi daun enceng gondok basah sebelum di analisis dengan spektroskopi IR yaitu, bagian daun enceng gondok yang sudah dipisahkan dari akar dan batangnya, kemudian dicuci dan dipotong kecil-kecil, berfungsi untuk menambah luas permukaan pada daun enceng gondok. Proses selanjutnya yaitu daun enceng gondok dikeringkan dengan sinar matahari dan diagin-aginkan sampai daun enceng gondok kelihatan layu dan bewarna hijau pucat menandakan berkurangnya kadar air pada daun enceng gondok, kemudian sampel daun enceng gondok di blender dan disaring menggunakan ayakan 120 mesh, kemudian sampel yang lolos disaring kembali dengan ayakan ukuran 250 mesh. Sampel yang digunakan adalah sampel yang tertinggal pada ayakan yang berukuran 250 mesh.

Sampel enceng gondok yang diperoleh berupa bubuk halus yang berwarna hijau dianalisis dengan spektroskopi IR. Hasil spektra IR biomassa daun enceng gondok basah atau daun enceng gondok segar dibandingkan dengan spektra biomassa daun enceng sesudah di oven 90° C. Spektra daun enceng gondok basah atau enceng gondok segar, jika dibandingkan dengan spektra enceng gondok setelah di oven 90° C. Tampak bahwa kedua spektra agak sedikit berbeda. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.1 dan gambar 4.2.

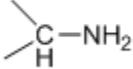


Gambar 4.1 Spektra IR Daun Enceng Gondok Basah atau Daun Enceng Gondok Segar



Gambar 4.2 Spektra IR Daun Enceng Gondok Setelah di Oven 90° C

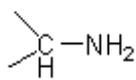
Table 4.1 Perbedaan Spektra IR antara Biomassa Daun Enceng Gondok Basah atau Segar dan Enceng Gondok Sesudah di Oven 90° C

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) Daun Enceng Gondok		Bilangan Gelombang Referensi (cm ⁻¹)	Intensitas Referensi	Vibrasi Referensi
	Enceng Gondok Basah	Enceng Gondok Sesudah di Oven 90° C			
1	3420,52	3393,52	3500-3200*	Lebar	Uluran O-H
2	2927,74	2926,78	300-2800	Lemah	Uluran C-H alifatik dan
3	1731,96	1735,81	1870-1550	Lemah	Uluran C=O
4	1650,95	1654,81	1650-1620	Kuat	Uluran C-O α-asam amino
5	1542,95	1542,95	1650-1550	Sedang-lemah	Uluran C=C Aromatik
6	1460,01		1425-1390	Lemah	Uluran Simetri CO ₂ ⁻ garam-garam asam amino
7	1404,08	1412,76	1450-1376*	Sedang	Tekukan C-H dari CH ₃
9	1363,58		1390-1360	Sedang	CH simetri dari CH ₃
10	1318,25	1318,25	1320-1210*	Kuat	Uluran C-O dari asam karboksilat
11	1252,68	1248,82	1280-1180	Sedang	Uluran C-N amina
13	1155,28	1157,27	1310-1020	Lemah	Uluran C-O-C dari eter
14	1104,17	1104,17	1290-1000	Lemah	Tekukan C-H aromatik
15	1060,78	1058,85	1090-1040	Sedang-kuat	Tekukan C-O amina
16	1038,60	1038,60	1045-1035	Lemah	Amina primer alifatik
17	892,98	895,87	900-690*	Lemah	 Tekukan =C-H keluar bidang dari aromatik
18	778,22	778,22			
19		696,25	770-650	Sedang	Tekukan O-H
20	657,68	665,40	750-600	Sedang	Tekukan N-H
21	606,57	614,29	850-500	Lemah-sedang	Uluran C-C
22	559,32	567,03	570-500	Lemah-sedang	Uluran N-H keluar bidang
23	523,64	523,64			

Sumber: Socrates, (1994); *Sastrohamidjojo (1992)

Berdasarkan spektra FTIR Gambar 4.1, pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar terdapat pita serapan lebar pada bilangan gelombang $3420,52 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi ulur O-H. Pita serapan lemah pada bilangan gelombang $2927,74 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya uluran C-H alifatik dan $-\text{CH}_2\text{-S-}$ uluran asimetri CH_2 . Pita serapan lemah pada panjang gelombang $1731,96 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi uluran C=O. Pita serapan kuat pada panjang gelombang $1650,95 \text{ cm}^{-1}$ merupakan uluran C-O α -asam amino. Pita serapan sedang lemah pada panjang gelombang $1542,95 \text{ cm}^{-1}$ merupakan uluran C=C Aromatik.

Pita serapan lemah pada panjang gelombang $1460,01 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan uluran Simetri CO_2^- garam-garam asam amino. Pita serapan sedang pada panjang gelombang $1404,08 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan tekukan C-H dari CH_3 . Pita serapan sedang pada panjang gelombang $1363,58 \text{ cm}^{-1}$ merupakan CH simetri dari CH_3 . Pita serapan kuat pada panjang gelombang $1318,25 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan uluran C-O dari asam karboksilat. Pita serapan sedang pada panjang gelombang $1252,68 \text{ cm}^{-1}$ merupakan uluran C-N amina. Pita serapan lemah pada panjang gelombang $1155,28 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan uluran C-O-C dari eter. Pita serapan lemah pada panjang gelombang $1104,17 \text{ cm}^{-1}$ merupakan tekukan C-H aromatik. Pita serapan sedang kuat pada panjang gelombang $1060,78 \text{ cm}^{-1}$ merupakan tekukan C-O amina.



Pita serapan lemah pada panjang gelombang $1038,6 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan amina primer alifatik. Pita serapan lemah pada panjang gelombang $892,98 \text{ cm}^{-1}$ dan panjang gelombang $778,22 \text{ cm}^{-1}$ merupakan tekukan $=\text{C-H}$ keluar bidang dari aromatik. Pita serapan sedang pada panjang gelombang $657,68 \text{ cm}^{-1}$ merupakan tekukan N-H. Pita

serapan lemah sedang pada panjang gelombang $606,57\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan uluran C-C. Pita serapan lemah-sedang pada panjang gelombang $559,32\text{ cm}^{-1}$ dan panjang gelombang $523,64\text{ cm}^{-1}$ merupakan uluran N-H keluar bidang.

Spektra IR enceng gondok sesudah pemanasan 90° C seperti pada gambar 4.2, terlihat bahwa sebagian besar serapan mengalami pergeseran bilangan gelombang, hal ini dapat dilihat pada serapan $3393,52\text{ cm}^{-1}$, serapan tersebut mengalami selisih pergeseran bilangan gelombang yang signifikan dibandingkan dengan serapan yang lain. Pergeseran serapan pada bilangan gelombang tersebut diakibatkan hilangnya atau berubahnya interaksi intermolekul, misalnya ikatan hidrogen disebabkan oleh berkurangnya kandungan air pada daun enceng gondok akibat proses pemanasan pada suhu 90° C , hal ini dibuktikan dengan masih adanya serapan -OH pada panjang gelombang $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$.

Spektra IR daun enceng gondok sesudah pemanasan 90° C juga memperlihatkan adanya pengurangan puncak serapan dan perubahan bentuk serapan, hal ini dapat dilihat pada serapan pada bilangan gelombang $1460,01\text{ cm}^{-1}$ dan bilangan gelombang $1363,58\text{ cm}^{-1}$. Hilangnya puncak serapan pada bilangan gelombang $1460,01\text{ cm}^{-1}$ dan bilangan gelombang $1363,58\text{ cm}^{-1}$ diperkirakan garam-garam asam amino (CO_2^-) dan (CH_3) tidak terdeteksi lagi pada spektra daun enceng gondok sesudah pemanasan 90° C . Hilangnya puncak serapan pada bilangan gelombang tersebut diperkirakan karena proses pemanasan pada suhu 90° C yang dilakukan mampu membebaskan daun enceng gondok dari pengotor berupa mineral, sehingga gugus-gugus yang ada dalam asam amino tidak terikat oleh mineral-mineral lain berupa pengotor.

Perubahan bentuk serapan $696,25\text{ cm}^{-1}$ pada bilangan gelombang $770\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ diperkirakan masih adanya kandungan air pada enceng gondok setelah pemanasan 90° C , hal ini dibuktikan pada daerah finger print terdapat serapan O-H. Karakterisasi protein antara daun enceng gondok basah atau segar dan daun enceng gondok setelah pemanasan 90° C sangat penting, untuk memperkirakan bahwa gugus-gugus asam amino yang terdapat pada protein daun enceng gondok yang berperan dalam mengadsorpsi merkuri (II) adalah $-\text{COOH}$ dan $-\text{NH}_2$ tidak mengalami pemutusan ikatan peptida dan protein mengalami denaturasi.

Hasil analisis karakter ikatan yang diperoleh dari spektra IR daun enceng gondok sebelum dan sesudah pemanasan 90° C di atas dapat diperkirakan bahwa tidak terjadi pemutusan ikatan peptida pada protein beserta gugus-gugus aktif pada asam amino, hal ini dibuktikan dengan masih adanya serapan gugus fungsi asam amino yaitu pada bilangan gelombang $2926,78\text{ cm}^{-1}$ adalah uluran C-H alifatik. C=O pada bilangan gelombang $1735,81\text{ cm}^{-1}$, bilangan gelombang $1248,82\text{ cm}^{-1}$ uluran C-N amina. Bilangan gelombang daerah finger print yaitu uluran C-C pada bilangan gelombang $614,29\text{ cm}^{-1}$, pada bilangan $665,40\text{ cm}^{-1}$ yaitu tekukan N-H. Bilangan gelombang $567,03\text{ cm}^{-1}$ dan $523,64\text{ cm}^{-1}$ yaitu uluran N-H.

Proses pemanasan daun enceng gondok baik yang dilakukan dengan pengeringan menggunakan sinar matahari maupun dengan menggunakan oven 90° C dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein. Denaturasi akan menyebabkan perubahan struktur protein dimana pada keadaan terdenaturasi penuh, hanya struktur primer protein saja yang tersisa, protein tidak lagi memiliki struktur sekunder, tersier dan kuartener, akan tetapi belum terjadi pemutusan ikatan peptide, hal ini dibuktikan dengan adanya

serapan amina primer alifatik pada bilangan gelombang $1038,60\text{ cm}^{-1}$ dan pada bilangan gelombang $1045\text{-}1035\text{ cm}^{-1}$ pada daun enceng gondok sebelum dan sesudah dioven 90°C .

4.3 Kadar Protein Kasar Daun Enceng Gondok Basah dan Enceng Gondok setelah di Oven 90°C

Proses preparasi penentuan kadar N total pada daun enceng gondok basah yaitu, daun enceng gondok basah atau segar yang sudah dipisahkan dari batang dan akarnya, dipotong-potong kecil-kecil dan dikeringkan pada sinar matahari dengan cara diangin-anginkan sampai daun enceng gondok kelihatan layu dan bewarna hijau pucat, sedangkan pada sampel daun enceng gondok setelah pemanasan 90°C . Sampel daun enceng gondok dipotong-potong kecil-kecil selanjutnya dipanaskan pada suhu 90°C . Proses selanjutnya daun enceng gondok yang dikeringkan dengan sinar matahari dan daun enceng gondok setelah di oven 90°C di blender dengan cara terpisahkan dan disaring menggunakan ayakan 120 mesh, kemudian sampel yang lolos disaring kembali dengan ayakan ukuran 250 mesh. Sampel yang digunakan untuk analisa N total adalah sampel yang tertinggal pada ayakan yang berukuran 250 mesh.

Dalam penentuan protein cara Kjeldahl ini, kandungan unsur N yang didapatkan tidak hanya berasal dari protein saja. Mengingat jumlah kandungan senyawa lain selain protein dalam bahan biasanya sangat sedikit, maka penentuan jumlah N total ini mewakili jumlah protein yang ada, sehingga disebut kadar protein kasar.

Penentuan kadar protein kasar daun enceng gondok basah dan daun enceng gondok setelah di oven 90°C , bertujuan untuk membandingkan kadar protein daun enceng gondok basah atau daun enceng gondok segar dengan kadar protein daun enceng

gondok setelah pemanasan 90° C. Berikut kadar protein sampel daun enceng gondok basah dan sampel daun enceng gondok setelah di oven 90° C yang diperoleh:

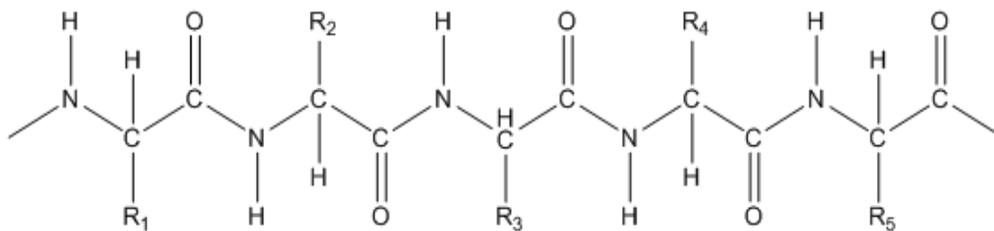
Table 4.2 Kadar N Total pada Daun Enceng Gondok dikeringkan dengan Sinar Matahari dan Kadar N Total dikeringkan Menggunakan Oven 90° C

Sampel	Ulangan	Massa Sampel	N Total (%)
Sinar Matahari	1	2.01 gram	0,780 %
	2	2.003 gram	0,790 %
Suhu 90° C	1	2.007 gram	0,850 %
	2	2.012 gram	0,849 %

Kadar protein N total enceng gondok basah atau segar yang diperoleh dengan cara dikeringkan dengan sinar matahari yaitu 0,780 % dan 0,790 % sedangkan kadar protein N total pada daun enceng gondok setelah di oven 90° C yaitu 0,850 % dan 0,849 %. Perbandingan jumlah N total protein enceng gondok yang dikeringkan dengan sinar matahari dan enceng gondok yang di oven 90° C tidak jauh berbeda, dengan selisih 0,070 % dan 0,059 %, hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadinya penurunan atau kerusakan kandungan protein akibat proses pemanasan 90° C, kandungan protein pada daun enceng gondok tetap stabil. Penurunan kandungan protein pada sampel daun enceng gondok yang dikeringkan dengan sinar matahari diakibatkan oleh proses preparasi sampel, pada waktu proses pengeringan daun enceng gondok sebagian kecil daun berwarna kuning yang menyebabkan kandungan protein pada daun berkurang.

Proses pemanasan pada daun enceng gondok dapat menyebabkan protein yang ada pada daun enceng gondok terdenaturasi. Davidek *et al.* (1990) menyatakan bahwa denaturasi pertama terjadi pada suhu 45°C denaturasi maksimal pada suhu 50-55°C.

Denaturasi akan menyebabkan perubahan struktur protein dimana pada keadaan terdenaturasi penuh, hanya struktur primer protein saja yang tersisa, protein tidak lagi memiliki struktur sekunder, tersier dan kuartener, akan tetapi belum terjadi pemutusan ikatan peptida pada kondisi terdenaturasi penuh. Denaturasi terjadi karena adanya gangguan pada struktur sekunder dan tersier protein. Pada struktur protein tersier terdapat empat jenis interaksi yang membentuk ikatan pada rantai samping seperti; ikatan hidrogen, jembatan garam, ikatan disulfida dan interaksi hidrofobik non polar, yang kemungkinan mengalami gangguan.



Gambar 4.3 Struktur Primer Protein

Struktur primer dalam suatu protein adalah urutan linear asam-asam amino yang digabungkan satu sama lain oleh ikatan peptida. Urutan ini ditentukan oleh urutan basa nukleotida dalam gen yang mengkode protein, termasuk juga dalam struktur primer adalah lokasi ikatan kovalen yang lain. Ikatan ini terutama yakni ikatan disulfide antara residu-residu sistein yang berdekatan dalam ruang tapi bukan dalam urutan asam amino linear. Ikatan silang kovalen ini antara rantai-rantai polipeptida terpisah atau antara bagian-bagian yang berbeda dari rantai yang sama, terbentuk oleh oksidasi gugus SH

pada residu sistein yang juga terekspos dalam ruang. Disulfide sering terdapat dalam protein ekstrasel, namun jarang ditemukan dalam protein intrasel.

Denaturasi protein yang berlebihan dapat menyebabkan insolubilitasi yang dapat mempengaruhi sifat-sifat fungsional protein yang tergantung pada kelarutannya. Protein yang terdenaturasi akan berkurang kelarutannya. Lapisan molekul bagian dalam yang bersifat hidrofobik akan keluar sedangkan bagian hidrofilik akan terlipat ke dalam. Pelipatan atau pembakikan akan terjadi bila protein mendekati pH isoelektris lalu protein akan menggumpal dan mengendap. Viskositas akan bertambah karena molekul mengembang menjadi asimetrik, sudut putaran optis larutan protein juga akan meningkat.

Pemanasan akan membuat protein terdenaturasi sehingga kemampuan mengikat airnya menurun, hal ini terjadi karena energi panas akan mengakibatkan terputusnya interaksi non-kovalen yang ada pada struktur alami protein tapi tidak memutuskan ikatan kovalennya yang berupa ikatan peptida. Proses ini biasanya berlangsung pada kisaran suhu sempit.

Proses pemanasan pada daun enceng gondok tidak menyebabkan kerusakan atau berkurangnya kadar protein, tetapi protein mengalami denaturasi yaitu terjadinya perubahan struktur dengan tidak mengakibatkan terjadinya pemutusan ikatan peptida, hal ini berarti protein masih ada pada daun enceng gondok, baik yang dikeringkan dengan sinar matahari maupun dengan pemanasan 90° C. Gugus-gugus aktif asam amino pada protein yang berperan sebagai pengikat logam tidak mengalami kerusakan selama proses pemanasan daun enceng gondok.

4.4 Uji Kualitatif Protein Terlarut pada Filtrat atau Eluen setelah dicuci dengan HCl 0,01 M

Proses preparasi pembuatan biomassa enceng gondok pada tahap sampel dicuci dengan HCl 0,01 M, berfungsi sebagai aktivasi, yaitu untuk menghilangkan logam-logam yang terdapat pada biomassa daun enceng gondok. Uji kualitatif protein pada filtrat larutan HCl perlu dilakukan, karena untuk mengetahui apakah protein ikut terlarut dalam filtrat tersebut. Metode uji kualitatif protein yang digunakan yaitu uji biuret dan uji ninhidrin.

4.4.1 Uji Biuret

Uji biuret dilakukan untuk membuktikan adanya molekul-molekul peptida dari protein yang ada pada filtrat sesudah dicuci dengan menggunakan HCl 0,01 M. Biuret adalah senyawa dengan dua ikatan peptida yang terbentuk pada pemanasan dua molekul urea, ion Cu^{2+} (dari reaksi biuret) dalam suasana basah akan bereaksi dengan polipeptida atau ikatan-ikatan peptida yang menyusun protein membentuk senyawa kompleks berwarna ungu (violet). Hasil yang diperoleh dari uji kualitatif protein menggunakan metode uji biuret sebagai berikut:

Table 4.3 Tabel Uji Biuret pada Filtrat bubuk Enceng Gondok setelah dicuci dengan HCl 0,01 M

Sampel	Ulangan	Hasil Uji Biuret	Ket (+/-)
Filtrat (berwarna kuning)	1	Sampel tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan 1 mL NaOH 10% dan ditambahkan 3 tetes CuSO_4 0,2%. Sampel berwarna kuning bening tetap sama seperti warna sampel semula.	(-)
	2	Sampel tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan 1 mL NaOH 10% dan ditambahkan 3 tetes CuSO_4 0,2%. Sampel berwarna kuning bening tetap sama seperti warna sampel semula.	(-)

Data analisa uji biuret pada filtrat yang dihasilkan menunjukkan bahwa hasil uji biuret pada filtrat negatif, ini berarti tidak terdapatnya protein pada filtrat yang dicuci dengan HCl 0,01 M, hal ini membuktikan protein tidak ikut terlarut ketika dilakukan aktivasi menggunakan HCl 0,01 M, diperkirakan protein masih terdapat pada daun enceng gondok.

4.4.2 Uji Ninhidrin

Uji ninhidrin dilakukan untuk membuktikan adanya asam amino bebas dalam protein. Semua asam amino atau peptida yang mengandung asam α -amino bebas akan bereaksi dengan ninhidrin membentuk senyawa kompleks berwarna biru. Hasil yang diperoleh dari uji kualitatif protein menggunakan metode uji ninhidrin sebagai berikut:

Table 4.4 Tabel Uji Ninhidrin pada Filtrat bubuk Enceng Gondok setelah dicuci dengan HCl 0,01 M

Sampel	Ulangan	Hasil Uji Ninhidrin	Asam Amino Bebas (+/-)
Filtrat (bewarna kuning)	1	Sampel tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan pereaksi ninhidrin, kemudian dipanaskan sampel mengalami perubahan menjadi menjadi coklat mudah agak sedikit keruh.	(-)
	2	Sampel tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan pereaksi ninhidrin, kemudian dipanaskan sampel mengalami perubahan menjadi menjadi coklat mudah agak sedikit keruh.	(-)

Data analisa uji ninhidrin pada filtrat yang dihasilkan menunjukkan bahwa hasil uji ninhidrin pada filtrat negatif, ini berarti tidak terdapatnya protein pada filtrat yang dicuci dengan HCl 0,01 M, hal ini membuktikan protein tidak ikut terlarut ketika dilakukan aktivasi menggunakan HCl 0,01 M, diperkirakan protein masih terdapat pada daun enceng gondok.

4.5 Karakterisasi Permukaan dan Distribusi Pori Biomassa Enceng Gondok Setelah Dicuci dengan HCl 0,01M.

Karakterisasi distribusi permukaan dilakukan menggunakan Mikroskop Optik jenis Olympus CX 31 dengan perbesaran maksimal 1000x, Nikon SMZ 1500 dengan perbesaran maksimal 120x dan SEM FEI jenis Inspect S50.

4.5.1 Mikroskop Optik

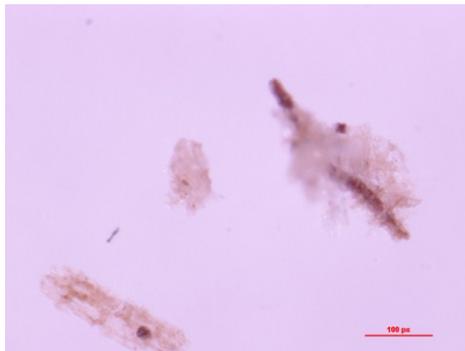
Karakterisasi distribusi morfologi permukaan permukaan dengan menggunakan jenis Olympus CX 31 dan SMZ 1500 merupakan jenis mikroskop binokuler. Sampel enceng gondok yang telah dicuci dengan HCl 0,01 M terlebih dahulu dibuat preparat dengan cara mengambil sedikit serbuk enceng gondok bagian batang menggunakan spatula selanjutnya diletakkan diatas kaca obyek, ditambah dengan sedikit air (kira-kira 1-2 tetes menggunakan pipet tetes) lalu ditutup menggunakan kaca penutup obyek. Diamati sampel pada Mikroskop Optik jenis SMZ 1500.

Hasil karakterisasi distribusi morfologi permukaan secara sederhana menggunakan Mikroskop Optik jenis Olympus CX 31 dengan perbesaran 400x (gambar

4.4) dan jenis SMZ 1500 dengan perbesaran 120x (gambar 4.5) dan ditunjukkan pada gambar 4.4 sebagai berikut:



Gambar 4.4 Hasil Karakterisasi dengan Mikroskop Optik (Olympus CX 31) pada Enceng Gondok Bagian Batang yang dicuci dengan HCl 0,01 M



Gambar 4.5 Hasil Karakterisasi dengan Mikroskop Optik (SMZ 1500) pada Enceng Gondok Bagian Batang yang dicuci dengan HCl 0,01 M

Hasil karakterisasi distribusi morfologi permukaan pada enceng gondok bagian batang secara sederhana menggunakan mikroskop optik menunjukkan distribusi partikel

dan morfologi permukaan yang tidak sama dan tidak rata baik ditinjau dari segi ukuran dan tekstur permukaannya. Hal itu dapat diketahui dari morfologi permukaan yang telah diamati dibawah mikroskop optik tersebut. Dari hasil tersebut memberikan informasi bahwa kemungkinan logam-logam berat yang diserap olehnya masih terakumulasi, sebanding dengan konsentrasi HCl yang digunakan yaitu 0,01 M sehingga mempengaruhi tekstur permukaan padatnya. Semakin besar konsentrasi HCl yang digunakan, maka semakin besar pula konsentrasi logam-logam yang dikeluarkan dari enceng gondok. Sebaliknya Semakin kecil konsentrasi HCl yang digunakan, maka semakin kecil pula konsentrasi logam-logam yang dikeluarkan dari enceng gondok.

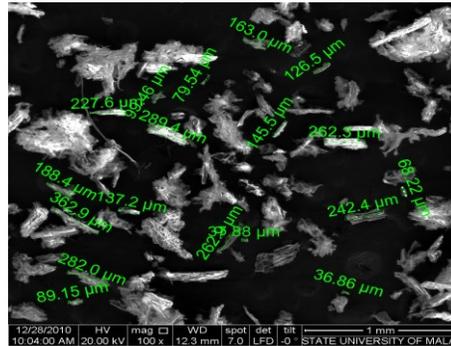
Distribusi morfologi permukaan enceng gondok bagian batang tidak dapat diamati secara jelas menggunakan mikroskop optik karena keterbatasan dari perbesaran pada mikroskop optik Olympus CX 31 dan SMZ 1500. Dari hasil karakterisasi, informasi yang dapat diperoleh yaitu ukuran serbuk enceng gondok bagian batang berupa gumpalan-gumpalan halus yang kecil dengan ukuran partikel dan tekstur permukaan yang tidak merata. Distribusi partikel suatu material padatan dapat terlihat dengan jelas menggunakan instrumen SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

4.5.2 SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

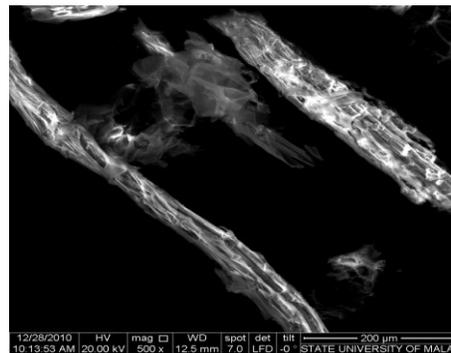
Distribusi partikel permukaan enceng gondok bagian batang, dikarakterisasi lebih lanjut menggunakan instrumen SEM (*Scanning Electron Microscopy*) jenis Olympus CX 31. Adapun prinsip umum dari SEM (*Scanning Electron Microscopy*) yaitu menembakkan permukaan benda dengan berkas elektron berenergi tinggi. Permukaan benda yang dikenai berkas akan memantulkan kembali berkas tersebut atau menghasilkan

elektron sekunder ke segala arah. Tetapi ada satu arah di mana berkas dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Detektor di dalam SEM mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Arah tersebut memberi informasi profil permukaan benda seperti seberapa landai dan ke mana arah kemiringan (Abdullah dan Khairurrijal, 2008).

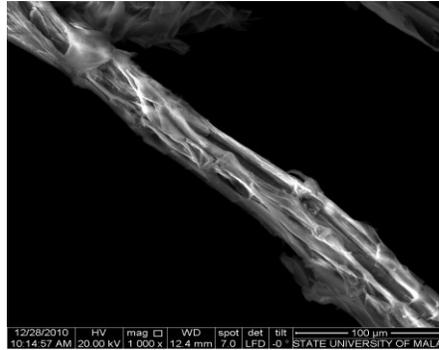
Serbuk sampel yang akan dikarakterisasi, diambil sedikit selanjutnya dimasukkan ke tempat sampel, lalu difoto menggunakan SEM. Hasil karakterisasi distribusi partikel permukaan enceng gondok bagian batang menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) jenis Olympus CX 31 dengan perbesaran bervariasi yaitu 100x, 500x, 2500x dan 5000x ditunjukkan pada gambar 4.6 s.d 4.9.



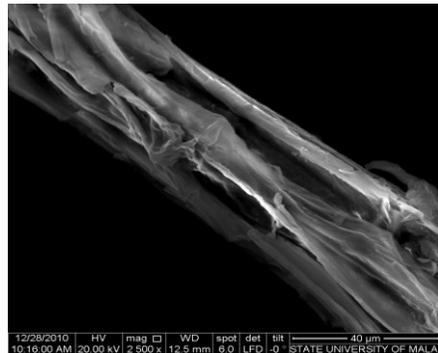
Gambar 4.6 Hasil Karakterisasi dengan SEM (Olympus CX 31) pada Enceng Gondok Bagian Batang pada perbesaran 100x



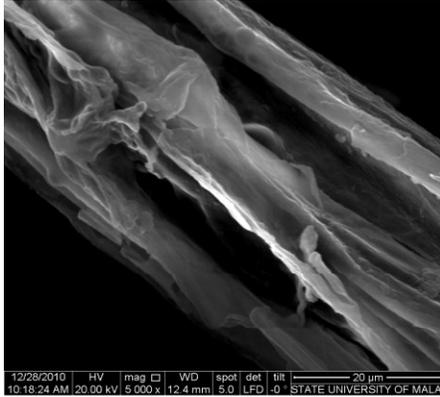
Gambar 4.7 Hasil Karakterisasi dengan SEM (Olympus CX 31) pada Enceng Gondok Bagian Batang pada perbesaran 500x



Gambar 4.8 Hasil Karakterisasi dengan SEM (Olympus CX 31) pada Enceng Gondok Bagian Batang pada perbesaran 1000x



Gambar 4.9 Hasil Karakterisasi dengan SEM (Olympus CX 31) pada Enceng Gondok Bagian Batang pada perbesaran 2500x



Gambar 4.10 Hasil Karakterisasi dengan SEM (Olympus CX 31) pada Enceng Gondok Bagian Batang pada perbesaran 5000x

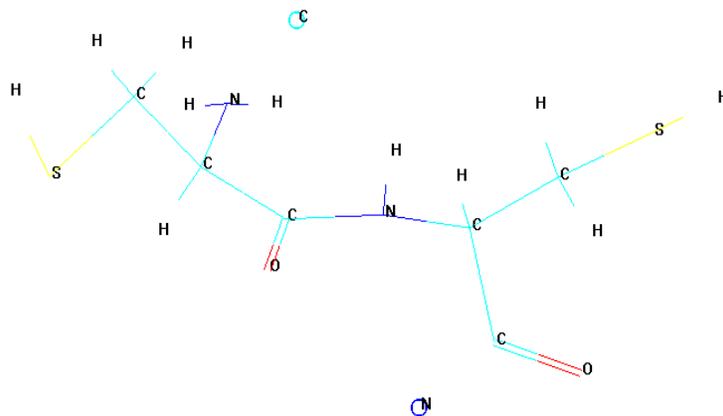
Dari hasil karakterisasi diatas, dapat diamati secara jelas distribusi partikel permukaan enceng gondok bagian batang menggunakan SEM (Olympus CX 31). Pada perbesaran 100x, partikel-partikel memiliki ukuran partikel dan tekstur permukaan yang tidak rata. Dengan menggunakan perbesaran 5000x, tekstur permukaan sampel terlihat sangat jelas, dan informasi yang diperoleh yaitu tekstur permukaannya tidak rata.

Ukuran partikel material padatan dapat ditentukan menggunakan SEM. Sesuai hasil karakterisasi yang diperoleh, dapat ditentukan ukuran partikel sampel secara umum berkisar antara 10-30 μm (makropori) dan $\pm 100 \mu\text{m}$ (medium) sehingga ukuran partikel rata-ratanya sebesar 174,28 μm . Dari ukuran partikel rata-rata ini, dapat dikategorikan ukuran partikel enceng gondok bagian batang termasuk dalam ukuran partikel makropori ($>50 \text{ nm}$).

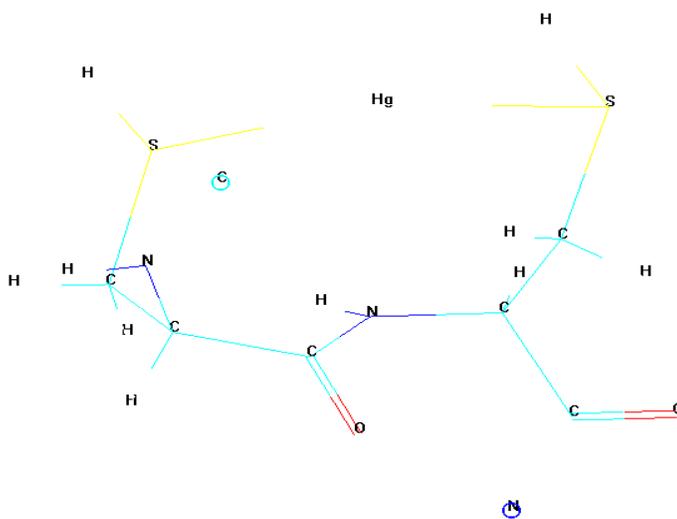
4.6 Karakteristik Vibrasi IR Pemodelan Interaksi Situs Aktif Biomassa dengan Hg²⁺ Metode QM/MM pada Level Teori RHF/STO-3G-AMBER dan Hg²⁺ menggunakan basis set LANL2DZ ECP

Penelitian ini mengkaji karakteristik vibrasi IR, pemodelan interaksi situs aktif biomassa enceng gondok dengan atom logam transisi Hg²⁺ dengan metode QM/MM pada level teori RHF/STO-3G-AMBER, menggunakan pendekatan RHF dengan menjalankan perhitungan *single point*. Data yang diperoleh dibandingkan dengan hasil spektra IR eksperimen. Basis set yang digunakan untuk asam amino yang terdapat pada situs aktif biomassa enceng gondok yaitu sistein adalah STO-3G, untuk unsur H, C, N, O, S. Basis set didownload dari <https://bse.pnl.gov/bse/portal>, sedangkan untuk unsur logam Hg²⁺ basis set yang digunakan adalah LANL2DZ ECP.

Spektroskopi inframerah merupakan suatu teknik pengukuran absorpsi molekul yang didasarkan pada transisi vibrasi gugus fungsi pada molekul tersebut. Secara teoritis pengukuran inframerah dilakukan pada daerah panjang gelombang 750 nm – 2,5 µm atau dinyatakan dengan nilai bilangan gelombang ($\bar{\nu}$) yang mempunyai hubungan dengan λ adalah $\bar{\nu} = 1/\lambda$ dimana λ , = bilangan gelombang dinyatakan dengan satuan cm⁻¹, λ = panjang gelombang dinyatakan dalam satuan cm. Model struktur senyawa protein merT yang terdapat pada membran sel daun enceng gondok, dilakukan optimasi geometri struktur berupa minimisasi energi struktur dengan mekanika molekul medan gaya AMBER, nilai batas gradient energi geometri optimasi sebesar 0,001 kkal/(Å.mol) dengan *maximum cycles* 27120.



Gambar 4.12. Asam Amino Sistein Sebelum Berikatan dengan Hg^{2+}



Gambar 4.13. Asam Amino Sistein Sesudah Berikatan dengan Hg^{2+}

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan metode QM-MM pada level teori RHF berupa spektra IR kemudian dibandingkan dengan hasil spektra IR eksperimen dari penelitian sebelumnya.

Berdasarkan data hasil spektra perbandingan kimia komputasi dan analisis spektra instrumen sebelum berikatan dengan Hg^{2+} . Pita serapan lemah pada panjang gelombang 3252,98 cm^{-1} dan 3367,48 cm^{-1} menunjukkan uluran N-H amina sekunder. Pita serapan lemah pada panjang gelombang 2365,20 cm^{-1} dan 2359,74 cm^{-1} menunjukkan tekukan S-H dan uluran C-H. Pita serapan kuat pada panjang gelombang 1624,78 cm^{-1} dan 1627,81 cm^{-1} menunjukkan uluran C=O asimetri dari karboksilat dan guntingan H-N-H. Pita serapan sedang pada panjang gelombang 1388,70 cm^{-1} dan 1372,26 cm^{-1} menunjukkan C-H simetri dari CH_2 . Pita serapan sedang pada panjang gelombang 1255,80 cm^{-1} dan 1244 cm^{-1} menunjukkan uluran C-N amina sedangkan pada pita serapan lemah pada panjang gelombang 1168,25 cm^{-1} dan 1159,14 cm^{-1} menunjukkan tekukan C-H.

Pita serapan sedang pada pada panjang gelombang 681,84 cm^{-1} dan 668,29 cm^{-1} menunjukkan uluran C-S dari $-\text{CH}_2\text{-S}-$. Pita serapan lemah pada panjang gelombang 603,01 cm^{-1} dan 619,11 cm^{-1} menunjukkan tekukan N-H. Pita serapan sedang pada panjang gelombang 513,84 cm^{-1} dan 519,78 cm^{-1} menunjukkan uluran C-C. Pita serapan sedang lemah pada panjang gelombang 470,15 cm^{-1} dan 450 cm^{-1} menunjukkan tekukan C-N-C amina sekunder. Perbedaan karakter vibrasi ikatan disebabkan oleh perbedaan pada panjang gelombang, spektra analisis instrument yaitu 400 cm^{-1} -4000 cm^{-1} sedangkan pada panjang gelombang spektra vibrasi kimia komputasi yaitu -2677,84 cm^{-1} – 4562,94 cm^{-1} .

Hasil spektra perbandingan vibrasi kimia komputasi dan analisis spektra instrumen sesudah berikatan dengan Hg^{2+} . Pita serapan kuat pada panjang gelombang 3438,84 cm^{-1} dan 3438,84 cm^{-1} menunjukkan uluran H-C-H dan uluran O-H. Pita serapan sedang pada panjang gelombang 1640,44 cm^{-1} dan 1648,06 cm^{-1} menunjukkan uluran

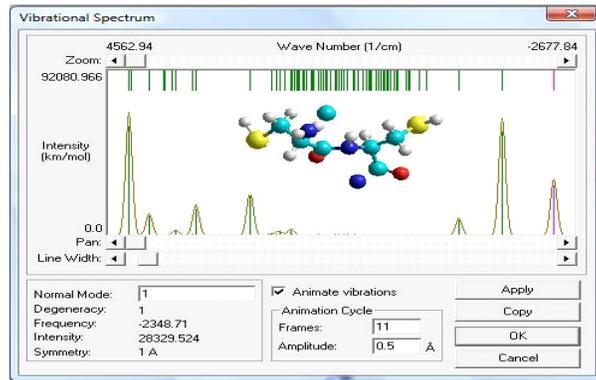
C=O asimetri karboksilat. Pita serapan lemah pada panjang gelombang 1195,5 cm^{-1} dan 1250,75 cm^{-1} menunjukkan tekukan C-H asimetri dari CH_2 . Pita serapan sedang pada panjang gelombang 1123,44 cm^{-1} dan 1159,14 cm^{-1} menunjukkan adanya uluran C-N amina.

Pita serapan lemah spektra vibrasi komputasi sesudah berikatan dengan Hg^{2+} pada panjang gelombang 1011,30 cm^{-1} menunjukkan uluran C-N tidak simetri sedangkan pada spektra instrumen tidak terdapat serapan tersebut. Pita serapan sedang pada panjang gelombang 641,30 cm^{-1} dan 589,21 cm^{-1} menunjukkan uluran C-C. Pita serapan kuat pada panjang gelombang 602,35 cm^{-1} dan 618,14 cm^{-1} menunjukkan adanya uluran C-S dari $-\text{CH}_2\text{-S-}$, hal ini diperkuat Podstawka (2004) yang menyatakan ikatan $-\text{CH}_2\text{-S-}$ pada panjang gelombang 600-680 cm^{-1} . Munculnya serapan sedang spektra vibrasi komputasi pada panjang gelombang 367,03 cm^{-1} dan spektra eksperimen pada panjang gelombang 450-350 cm^{-1} menunjukkan adanya uluran S-Hg-S. Hal ini diperkuat oleh Davis (1975) dan Yamamoto (1994) yang menyatakan ikatan S-Hg pada bilangan gelombang (310 cm^{-1} -316 cm^{-1}) dan Ueyama (2006) yang menyatakan bahwa ikatan S-Hg-S pada bilangan gelombang mendekati 330 cm^{-1} .

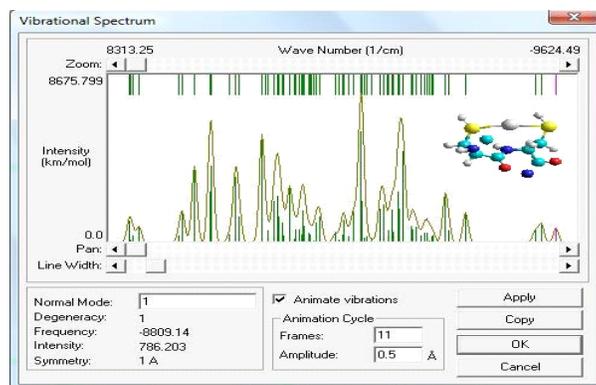
Pita serapan spektra vibrasi kimia komputasi interaksi dengan Hg^{2+} , terjadi serapan lemah pada panjang gelombang -4073,01 cm^{-1} menunjukkan uluran S-Hg-S. pita serapan lemah pada panjang gelombang -3316,94 cm^{-1} menunjukkan uluran S-Hg. Pita serapan sedang pada panjang gelombang -3297,68 cm^{-1} menunjukkan Uluran S-Hg. Pita serapan sedang pada panjang gelombang -2763,14 cm^{-1} menunjukkan guntingan S-Hg-S. Pita serapan kuat pada panjang gelombang 5032,61 cm^{-1} menunjukkan uluran S-Hg dan tekukan S-H. Pita serapan sedang pada panjang gelombang 5474,46 cm^{-1}

menunjukkan uluran S-Hg. Pita serapan lemah pada panjang gelombang 5617,75 menunjukkan Uluran S-Hg. Perbedaan karakter vibrasi ikatan disebabkan oleh perbedaan pada panjang gelombang, spektra analisis eksperimen yaitu 400 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} sedangkan pada panjang gelombang spektra vibrasi kimia komputasi yaitu $-9624,49\text{ cm}^{-1}$ – $8313,25\text{ cm}^{-1}$.

Gambar spektra vibrasi diskontinyu vibrasi komputasi sebelum dan sesudah berikatan dengan Hg^{2+} , ini dapat dilihat dari gambar dibawah ini :



Gambar 4.14 Gambar Spektra Vibrasi Kimia Komputasi Sebelum Berikatan dengan Hg^{2+}



Gambar 4.15 Gambar Spektra Vibrasi Kimia Komputasi Sesudah Berikatan dengan Hg^{2+}

Hasil analisis perbandingan karakter ikatan spektra vibrasi komputasi dan spektra eksperimen pada sampel daun enceng gondok sebelum berikatan dengan Hg^{2+} tidak jauh berbeda, hal ini dibuktikan dengan adanya serapan yang identik pada panjang gelombang tertentu. Spektra ikatan vibrasi komputasi sesudah berikatan dengan Hg^{2+} adanya pergeseran serapan sedang pada panjang gelombang $367,03 \text{ cm}^{-1}$ yaitu ikatan S-Hg-S.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- Kadar protein N total enceng gondok basah atau segar yang diperoleh dengan cara dikeringkan dengan sinar matahari yaitu 0,780 % dan 0,790 % sedangkan kadar protein N total pada daun enceng gondok setelah di oven 90° C yaitu 0,850 % dan 0,849 %.
- Uji kelarutan protein pada uji kualitatif protein menguatkan bahwa tidak terjadinya kelarutan protein pada biomassa enceng gondok setelah sampel dicuci HCl 0,01 M. Uji biuret negatif (-) dengan tidak terjadinya perubahan warna ungu (violet) pada sampel, hal ini menunjukkan tidak adanya molekul-molekul peptida dari protein yang ada pada filtrat. Uji ninhidrin negatif (-) dengan tidak terjadinya perubahan warna biru pada sampel, ini menunjukkan tidak adanya asam amino bebas pada sampel.
- Hasil penelitian menggunakan mikroskop optik jenis Olympus CX 31 dan Nikon SMZ 1500 menunjukkan, tekstur permukaan padatan enceng gondok (*Eichornia crassipes*) tidak sama dan tidak rata baik ditinjau dari segi ukuran dan tekstur permukaannya.
- Hasil foto SEM (*Scanning Electron Microscopy*) menunjukkan ukuran pori sampel secara umum berkisar antara 10-30 μm (*small macropore*) dan $\pm 100 \mu\text{m}$ (*medium macropore*) dengan ukuran partikel rata-ratanya sebesar 174,28 μm .

Dari distribusi pori rata-rata ini, dapat dikategorikan ukuran pori enceng gondok termasuk dalam ukuran partikel makropori (>50 nm).

- Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan mengenai studi karakter vibrasi IR pada enceng gondok basah atau enceng gondok segar sebelum dilakukan proses preparasi dan sesudah di oven 90° C. Penjelasan hasil analisis karakter ikatan yang diperoleh dari spektra IR daun enceng gondok sebelum dan sesudah pemanasan 90° C diperkirakan bahwa hanya terjadi denaturasi, hal ini dibuktikan dengan masih adanya serapan gugus fungsi asam amino yang mengalami sedikit pergeseran bilangan gelombang yaitu pada bilangan gelombang 2926,78 cm⁻¹ adalah uluran C-H alifatik. C=O pada bilangan gelombang 1735,81 cm⁻¹, bilangan gelombang 1248,82 cm⁻¹ uluran C-N amina. Bilangan gelombang daerah finger print yaitu uluran C-C pada bilangan gelombang 614,29 cm⁻¹, pada bilangan 665,40 cm⁻¹ yaitu tekukan N-H. Bilangan gelombang 567,03 cm⁻¹ dan 523,64 cm⁻¹ yaitu uluran N-H.
- Spektra perbandingan vibrasi kimia komputasi dan analisis spektra instrument sesudah berikatan dengan Hg²⁺ menunjukkan adanya kesamaan serapan. Pita serapan kuat pada panjang gelombang vibrasi komputasi 602,35 cm⁻¹ dan spektra instrument 618,14 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi simultan uluran C-S dari –CH₂-S dan tekukan C=O. Munculnya serapan sedang spektra vibrasi komputasi pada panjang gelombang 367,03 cm⁻¹ dan spektra eksperimen 450-350 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi simultan uluran S-Hg-S, tekukan C=O. Animasi vibrasi hasil kimia komputasi dapat memberikan hasil yang lebih detil tentang model vibrasi.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut karakteristik spektra IR pemodelan interaksi situs aktif biomassa dengan Hg^{2+} metode QM-MM pada level teori RHF/6311++G** -AMBER dan Hg^{2+} menggunakan basis set LANL2DZ ECP karena basis set yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, H.A., 2005, *Biokimia Metabolisme Biomolekul*, Alfabeta, Jakarta
- Agus, Taufiq., 1995, *Tesis Katalitik dan Kimia Permukaan Sistem ZnO/Al₂O₃ Untuk Dekomposisi Metanol*, UI Jakarta, Jakarta
- AL, Ayubi, 2008, *Skripsi Studi Keseimbangan Adsorpsi Merkuri (II) pada Biomassa Daun Enceng Gondok (Eichhornia Crassipes)*, UIN Malang, Malang
- Alaerts, 1987, *Metode Penelitian Air*, Usaha Nasional, Surabaya
- Alesia, M., 2008, *Protein Based Capacitive Biosensors for the Detection of Heavy-Metal Ions*, Lund University, Sweden
- Alfian, Z, 2006, *Merkuri Antara Manfaat dan Efek Penggunaannya Bagi Kesehatan Manusia dan Lingkungannya*, Medan: Universitas Sumatera Utara Repository.
- Allen, T., 1974, *Particle Size Measurement*, Champman and Hall, Adition, London
- Anonim, 2002, *Hyperchem Realease 8.0 for Windows : Manual*, Autodesk Inc.
- Anonymous, 1998, *A Guide to Kjeldahl Nitrogen Determination Methods and Apparatus*, Labconco Corporation, USA, 3
- Anonymous, 2003, *Determination of Nutrients* www.ccl.nl, diakses tanggal 15 Febuari 2009, 4
- Anonymous, 2008, *Pencemaran Merkuri dari Darat ke Laut*, <http://kompas.com/kompas-cetak/0412/02/bahari/1412383.htm>, diakses tanggal 3 desember 2008
- Attwood, T.K., dan D.J. Parry-Smith, 1999, *Introduction to Bioinformatics*, Harlow: Pearson Education
- Basset, J., Deny, R. C., Jeffrey, C. H., dan Mendhom, J. 1994, *Buku Ajar Vogel, Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*, Penerjemah: L. Setiono dan A. H. Pudjaatmaka, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 850
- Brisdon, A.K, 1998, *Inorganic Specktroscopic Methods*, New York: Oxford University Press Inc
- Bronsted, J. N., *J. Phys Chem*, Vol 30, 1926 New York: Florida International University
- Budiono, A. 2003, *Pengaruh Pencemaran Merkuri Terhadap Biota Air*, Makalah Pengantar Falsafah Sains, Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Bonnie O, Leung, Farideh Jalilehavad, 2006, *Complex Formation of Mercury(II) with Cysteine in Aqueous Solution*, University of Calgary, Canada

- Cotton, F. A. G., Wilkinson, 1987, *Kimia Anorganik Dasar*, Edisi Pertama, Alih Bahasa Suhairto, UI press, Jakarta
- Danielsson, J., 2004, *Computational Chemistry Studies of UV Induced Processes in Human Skin*, Dissertation, Departemen of Physical, Inorganic and Structural Chemistry, Stockholm University, Sweden.
- Dewi, Chandra, 2002, *Ruang Lingkup Biologi*, Aristo Rahadi, Jakarta
- Dewi, R., 2006, *Adsorpsi Nikel (II) Menggunakan Biomassa Daun Rumput Gajah (Pennisetum Purpureum Schumacher)*, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang
- Dwi Prasetyo, 2008, *Bagian-Bagian Sel*, Hyperion Inc, Jakarta
- Ebadian, Allen, M dan Cai, Y, *Mercury Contaminated Material Decontamination Methods: Investigation and Assessment*, New York: Florida International University
- Edy Batara, M, S., 2003, *Pertahanan Metabolik dan Enzim Litik Dalam Mekanisme Resistensi Tanaman Terhadap Serangan Patogen*, Digital Library, USU
- Effendy, 2006, *Teori VSEPR Kepolaran, dan Gaya Antarmolekul*, Bayumedia Publishing, Malang
- Elok Kamilah Hayati, 2007, *Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*, UIN Malang, Malang
- Elza, Bustrom., 2008, *Assessment of Mercury Methylation and Demethylation with Focus on Chemical Speciation and Biological Processes*, Georgia Institute of Technology, Georgia
- Estien Y., 2006, *Penuntun Praktikum Biokimia*, Andi, Yogyakarta
- Fessenden and Fessenden, 1982, *Kimia Organik Jilid 1 Edisi ke-3*, Erlangga, Jakarta. Hal 29.
- Foth, H. D., 1984, *Fundamental of Soil Science*, John Wiley and Sons, Canada, 323-326
- Gardea-Torresdey, J.L., Tiemen, J.H. Gonzales, J.A., Hening and M.S. Townsend, 1990, *Removal of Nickel Ions from Aqueous Solution by Biomass and Silica-Immobilized Biomass of Medicago Sativa (Alfalfa)*, J.of Haz. Mat., pp. 205-216
- Gardener, F. P., Pearce, R. L., dan Mitchael, R. L., 1991, *Fisiologi Tanaman Budidaya*, Penerjemah S. Herawati, UI-Press, Jakarta, 146-149
- Ghost, A. K., dan Curthoys, G., *J. Chem Soc, Farad I, Vol 80*, 1984
- Greenberg, A. E., Clesceri, L. S., dan Eaton, A. D., 1992, *Standart Methods for the Examination of Water and Wasterwaters*, Eighteenth Edition, American Public Helath Association, 4-75 : 4-97
- Gunnar, 2007, *Metals Toxicology*, Academic Press is an Imprint of Elsevier, California 92101-4495, USA

- Gustavo, de. M. Seabra., Juan, Torras., Ross, C. Walker., and Adrian Roitberg, 2007, *Mixed QM/MM Calculation in Biological Systems*, university of florida, USA.
- Hardjono, S., 2001, *Spektroskopi*, Liberty Yogyakarta, Yogyakarta
- Hart, H., 2003, *Kimia Organik*, Erlangga, Jakarta
- Haryati, 2003, *Biomembran*, USU, Sumatra Utara
- Hasim., 2007, *Enceng Gondok Pembersih Logam Berat*, www.kompas.com/kompas-cetak/0307/02/inspirasi/404854.htm-40k-, diakses pada tanggal 22 maret 2008
- Harnowo, D, Pranowo, 2001, *Pemodelan Molekul*, Jurusan Kimia FMIPA UGM, Yogyakarta
- Heryando, P., 2004, *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*, Rineka Cipta, Jakarta
- Hernowo, S, sipon. M., 1999, *Kajian Enceng Gondok Sebagai Bahan Baku Industri dan Penyelamatan Lingkungan Hidup di Daerah Perairan*. Fakultas Kehutanan Mulawarman, Samarinda
- Horwits, W., 1980, *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, Thirteenth Edition, Published by the Journal of the AOAC, USA, 53
- Ismunandar, 1996, *Kimia Anorganik*, Iwanami Shoten, Jakarta
- Jacobs, M. B., 1958, *Chemical Analysis of Food and Food Product*, Third Edition, Van Nostrand Company Inc, New York, 38-39
- Jainendra Kumar, 2007, *Study of the Role of merP Protein in Bacterial Detoxification of Mercury*, College of Commerce, India
- Jensen, F. 1999, *Introduction to Computational Chemistry*, John Wiley and Sons, New York
- Jerzy, L., 2001, *Computational Chemistry*, Jakson State University, USA
- Katrizky, A.L., 1997, *J Chem Inform*. Addison Longman, London
- Kaye, G.W dan T.H. Laby, 1973, *Tables of Physical and Chemical Constans*, London and New York: Longman
- Kennedy, J. H., 1984, *Analytical Chemistry*, Horcouth Brace Javanovich Pulbl., Sandiego
- Khairinal, 2000, *Skripsi Dealuminasi Zeolit Alam Wonosari dengan Perlakuan Asam dan Proses Hidrotermal*, UGM, Yogyakarta
- Khalifah, S.N, 2008, *Studi Keseimbangan Adsorpsi Merkuri Pada Biomassa Daun Enceng Gondok Yang Diimobilisasi Pada Matriks Polisilikat*, Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang.

- Khopkar, S.M, 2003, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI-press, Jakarta
- Kirk-Othmer, 1991, *Encyclopedia of Chemical Technology*. 3rd Ed. Vol. 24, New York: John Wiley and Sons
- Kolthof, S. D. Dan Sandell, 1969, *Quantitative Chemical Analysis*, Fourth Edition, Mac Millan Publishing co., inc., New York, 842
- Lane, R., Chow, C. W. K., Davey, D. E., Mulchay, D. E, dan Mcleod S., 1997, *On-Line Microdistillation-Based Preconcentration Technique for Ammonia Measurement*, the Analyst Vol 122, www.rsc.org, diakses tanggal 23 Maret 2005, 1549-1552
- Larkin, Paul., 1965, *About University Chemistry*, Krueger. Co, USA. pp. 631, 643
- Larry, D.B., Judkins J.F., and Weant, B.L., 1982, *Process Chemistry for Water and Wastewater*, Prentice Hall Inc., New Jersey, pp. 202-206
- Leach, A. R., 1996, *Molecular Modelling, Prinsiples and Application*, Addison Wesley Longman, London
- Levine, I. N., 2000, *Quantum Chemistry*, 5th Edition, Prentice Hall, New York
- Lehninger, A.L., 1982, *Dasar-Dasar Biokimia*, Jilid I, Alih Bahasa Thenawidjadja M., Erlangga, Jakarta
- Lilik, R., 2008, *Studi Kinetika Adsorpsi Merkuri (II) Pada Biomassa Daun Enceng Gondok (Eichhornia Crassipes)*, Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri, Malang
- Mapes, J. E., dan Eischen, R. R., *J. Phys Chem.* Vol 58, 1954
- Mohadi, R., 2004, *Tesis Immobilisasi Asam Humat Pada Kitin dan Aplikasinya Untuk Adsorpsi Ag (I) Dalam Medium Air*, UGM, Yogyakarta
- Murtadha, M., 2002, *Manusia dan Alam Semesta*, PT Lentera Basritama, Jakarta
- Narsito, Roy Andreas, Sri Noegrohati, 2007, *Karakteristik Adsorpsi Tembaga (II) Pada Humin Dalam Medium Air*, UGM, Yogyakarta
- Novizan, 2002, *Petunjuk Pemupukan Yang Efektif*, Argomedia Pustaka, Jakarta, 34-37
- Opella, Stanley., 1998, *NMR Structural Studies of Mercury Transport Proteins*, University of Pennsylvania, Pennsylvania
- Ophart, C.E., 2003. *Virtual Chembook*. Elmhurst College
- Oscik, J., 1982, *Adsorbtion, Edition Cooper*, I. L., John Wiley and Sons, New York. Pp. 128-129, 152-154
- Poedjiadi, A, 1994, *Dasar-Dasar biokimia*, UI Press; Jakarta, 85

- Pranowo, D. H., 2001, *Pemodelan Molekul*, Jurusan Kimia FMIPA, Yogyakarta
- Ramachandran, 2008, *Computational Chemistry and Molecular Modeling*, Springer-Verlag Heidelberg, Berlin
- Rudi, H., 2003, *Budi Daya Enceng Gondok di Indonesia*, Penerbit Rineka Cipta Karya, Jakarta
- Rustaman, 2008, *Pemodelan Mekanisme Reaksi Enzimatik*, Universitas Padjadjaran, Jakarta
- Sastroraharjo, H., 2001, *Spektroskopi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Sastrohamodjojo, H., 1992, *Spektroskopi*, Edisi Kedua, Penerbit Liberty, Yogyakarta, 20-41
- Sawyer, C. N., and McCharty, P.L., 1987, *Chemistry for Engineering*. Third Edition, McGraw-Hill Book Company, New York, pp. 89
- Sax, L. N., dan Lewis, R. J. Sr., 1987, *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, Eleventh Edition Van Nostrand Reinhold, Company, New York
- Slamet, S., 2003, *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Socrates, 1994, *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition*, New York: John Wiley and Sons
- Spiegel, K., 2004, *Hybrid QM/MM Molecular Dynamic Simulation in Drug DNA Interactions*, Dissertation Department of Chemistry, University of Cagliari, Italy
- Sudarmaji, 2003, *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Sugiyarto, K.H, 2003, *Kimia Anorganik II*, Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta
- Suhendrayatna, 2004, *Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Mikroorganisme*. <http://wwwstd.ryu.titech.ac.jp/indonesia/zoa/paper/html/papersuhendrayatna.html>, diakses tanggal 24 maret 2008
- Svehlk, G., 1985, *Vogel Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro*, Edisi Kelima, Penerjemah: L Setiano dan A. H. Padjuatmako, PT. Kulman Media Pustaka, Jakarta, 57
- Tanabe, K., *Solid Acids and Bases*, Academic Press Inc, New York, 1970
- Tsuboi, T., Hirano, Y., Shibata, Y., dan Motomizu, S., 2002, *Sensitivity Based on Flower Injection Indophenol Spectroptometry With Manganese (II) Ion as a Catalyst and Analysis of Exhaust Gas of Thermal Power Plant*, Analytical Sciences Chemistry. wwwsoc.nii.as.jp, diakses tanggal 5 April 2005
- Thomas, V., 1993, *Transition Metals in Control of Gene Expression*, Science, New York

Uchida, H., and Temma, M., *Bul. Chem Soc. Japan*, Vol 38, 1965

Uji Saputro, 2002, *Skripsi Preparasi Katalis Cr₂O₃/Zeolit sebagai Perekah (Cracking) Oli Bekas pada Temperatur 350 °C*, Universitas Jember, Jember

Underwood A. L. & day, R.A., 2002, *Analisis Kimia Kuantitatif*, alih bahasa sopyan, Erlangga, Jakarta

Welling, C., *J. Am. Chem Soc*, Vol 72, 1950

Weber, Jr., W. J., 1972, *Physics Chemical Process For Water Quality Control*, John Wiley Interscience, New York, pp. 199, 229 – 296

Winarno, 1992, *Kimia Pangan dan Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta